



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Microencapsulación de Astaxantina y su
Aplicación Potencial en Bebidas

TESIS

Que presenta

IBQ. MARIA MAGDALENA RIVERA SALAS

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIA

Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores

DR. ROBERTO GUTIÉRREZ DORADO
MC. MARCO ANTONIO PARRA INZUNZA[†]

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Tecnología Poscosecha y Fermentación y el laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. Roberto Gutiérrez Dorado y del M.C. Marco Antonio Parra Inzunza (q.e.p.d); asimismo, contó con la asesoría del Dr. José de Jesús Caro Corrales, Dr. Ramón Ignacio Castillo López y Dra. Evangelina García Armenta. Una parte importante del trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos Funcionales del CIAD Culiacán bajo la asesoría del Dr. José Basilio Heredia. Maria Magdalena Rivera Salas recibió beca de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) para la realización de sus estudios de posgrado.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán de Rosales, Sinaloa el día 06 del mes Febrero del año 2020, el (la) que suscribe IBQ. Maria Magdalena Rivera Salas alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos con número de cuenta 17660531, de la Unidad Académica Facultad de Ciencias Químico Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Roberto Gutiérrez Dorado cede los derechos del trabajo titulado "Microencapsulación de Astaxantina y su Aplicación Potencial en Bebidas", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

IBQ. María Magdalena Rivera Salas

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por indicarme el camino y darme fuerzas para seguir adelante.

A mi familia, por su inmenso amor y apoyo incondicional en todo lo que hago.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por brindarme la oportunidad y el financiamiento económico para realizar mis estudios de maestría.

A mis directores de tesis, al Dr. Roberto Gutiérrez Dorado, por todo su apoyo y paciencia, gracias por guiarme en mi proceso de formación, al M. C. Marco Antonio Parra Inzunza (q.e.p.d.), por haberme permitido ser parte de su grupo de trabajo y por haber confiado en mí durante esta etapa de crecimiento académico y personal, sin ustedes, nada de esto hubiera sido posible.

A los miembros del comité de tesis, Dr. José de Jesús Caro Corrales, Dr. Ramón Ignacio Castillo López y Dra. Evangelina García Armenta, por toda la asesoría y confianza brindada, antes y durante el desarrollo de esta investigación.

Al Laboratorio de Alimentos Funcionales del CIAD Culiacán, Dr. José Basilio Heredia, M. C. Laura Contreras, M. C. Alexis Emus y a mis compañeros Manuel y Olimpia, por todas las facilidades brindadas durante la fase experimental, así como por su apoyo y amistad durante mi estancia en su laboratorio.

Al Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal de la UAQ, M. C. Ana Lucía Tovar Álvarez, por su excelente labor en el análisis de morfología y por todas las facilidades concedidas para ello.

A mis compañeros de generación, Katya, Milton, Olivia, Rogelio, Felicitas, Andrés y Luis, por permitirme compartir con ustedes alegrías y preocupaciones a lo largo de esta etapa, su amistad hizo este viaje más divertido.

Y a todos aquellos que hicieron posible este trabajo, ¡Mil gracias!

DEDICATORIA

A mi padre, mi maestro de vida.
Siempre estarás en mi corazón....

INDICE

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE CUADROS	viii
I. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II. INTRODUCCIÓN	5
III. REVISIÓN DE LITERATURA	8
A. OBESIDAD.....	8
B. COMPLICACIONES ASOCIADAS A LA OBESIDAD.....	11
1. Resistencia a la insulina (RI) y diabetes tipo II.....	11
2. Aterosclerosis y presión arterial.....	12
3. Estrés oxidativo.....	14
a. Daño a lípidos.....	15
b. Daño a proteínas.....	16
c. Sistema de defensa antioxidante.....	16
C. BEBIDAS FUNCIONALES COMO ALTERNATIVA CONTRA LA OBESIDAD.....	18
1. Bebidas Funcionales.....	19
a. Bebidas funcionales a base de semillas.....	20
1) Bebida a base de soya.....	21
2) Bebida a base de amaranto.....	22
b. Bebidas funcionales a base de frutas.....	25
D. USO DE CAROTENOIDES EN BEBIDAS FUNCIONALES.....	26
1. Carotenoides.....	26
a. Definición.....	26
b. Clasificación.....	28
c. Distribución.....	30
E. CAROTENOIDES Y SALUD HUMANA: POTENCIAL EFECTO ANTI-OBESIDAD Y ANTIOXIDANTE.....	30
1. Astaxantina.....	32
a. Estructura química y propiedades fisicoquímicas.....	33
b. Función biológica.....	34
c. Inestabilidad.....	34

d. Aplicaciones en alimentos.....	36
F. MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	36
1. Secado por aspersión	38
a. Etapas del secado por aspersión.....	41
b. Agentes encapsulantes.....	42
1) Goma arábica.....	45
2) Maltodextrina.....	46
c. Factores limitantes en el proceso de microencapsulación.....	46
1) Concentración y características del polímero	47
2) Condiciones de operación	47
IV. JUSTIFICACIÓN.....	49
V. HIPÓTESIS.....	50
VI. OBJETIVOS.....	51
A. OBJETIVO GENERAL.....	51
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
A. MATERIALES	53
1. Materias primas.....	53
B. MÉTODOS.....	53
1. Obtención de condiciones óptimas del proceso de microencapsulación de astaxantina con maltodextrina y goma arábica mediante secado por aspersión	53
a. Diseño experimental.....	53
b. Preparación de las emulsiones de astaxantina.	55
c. Microencapsulación mediante secado por aspersión.	55
d. Evaluación de las variables de respuesta a los microencapsulados	57
1) Rendimiento (R)	57
2) Concentración de astaxantina [Ast]	57
e. Análisis de regresión y varianza	58
f. Optimización.....	60
g. Validación de las condiciones óptimas	61
2. Caracterización de los Microencapsulados de Astaxantina Optimizados (MAO).....	62
a. Humedad	62

b. Color	62
c. Tiempo de dispersión en agua.....	62
d. Solubilidad en agua.....	63
e. Eficiencia de microencapsulación (EM).....	63
f. Actividad antioxidante (AAox)	64
g. Morfología y tamaño de partícula	64
h. Propiedades de Flujo	66
1) Densidad aparente.....	66
2) Densidad compactada.....	66
3) Índice de Hausner	66
4) Compresibilidad.....	67
5) Densidad de Partícula	67
6) Porosidad	68
3. Desarrollo y caracterización de bebidas a base de proteína de amaranto y jugo de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).....	68
a. Obtención de bebidas adicionadas con MAO	68
b. Pasteurización de las bebidas adicionadas con MAO	68
c. Caracterización de las bebidas adicionadas con MAO	71
1) Proteína	71
2) Lípidos (Método de Mojonnier)	74
3) Cenizas.....	75
4) Fibra dietaria total (FDT) por método gravimétrico no enzimático	75
5) Carbohidratos disponibles.....	76
6) Contenido energético	76
7) pH	77
8) Sólidos solubles.....	77
9) Viscosidad	77
10) Sólidos totales	78
11) Concentración de astaxantina [Ast]	78
12) Actividad antioxidante	78
13) Análisis sensorial.....	79
4. Análisis estadístico.....	80
VIII.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	81

A. CONDICIONES ÓPTIMAS DEL PROCESO DE MICROENCAPSULACIÓN DE ASTAXANTINA CON MALTODEXTRINA Y GOMA ARÁBIGA MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN.....	81
1. Valores experimentales de R y [Ast] de los microencapsulados de astaxantina	81
2. Análisis de metodología de superficie de respuesta (MSR)	81
a. Modelos de regresión de las variables de respuesta	81
b. Gráficos de superficies de respuesta	88
c. Optimización del proceso de microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersión.....	93
d. Validación de las condiciones óptimas del proceso de microencapsulación de astaxantina	95
B. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, EFICIENCIA DE MICROENCAPSULACIÓN (EM), ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (AAox), MORFOLOGÍA Y TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LOS MICROENCAPSULADOS DE ASTAXANTINA OPTIMIZADOS (MAO).....	100
1. Humedad	100
2. Color	101
3. Tiempo de dispersión en agua.....	101
4. Solubilidad en agua.....	103
5. Eficiencia de microencapsulación (EM).....	103
6. Morfología y tamaño de partícula	104
7. Propiedades de Flujo	107
8. Actividad antioxidante (AAox)	110
C. FORMULACIÓN, COMPOSICIÓN QUÍMICA, CONTENIDO ENERGÉTICO, PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y SENSORIALES, CONTENIDO DE ASTAXANTINA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE BEBIDAS A BASE DE AMARANTO Y JUGO DE FRUTAS, ADICIONADAS CON MICROENCAPSULADOS DE ASTAXANTINA OPTIMIZADOS (MAO)	110
1. Formulación de las bebidas	111
2. Composición química y contenido energético	111
3. Propiedades fisicoquímicas	114
4. Concentración de astaxantina	118
5. Actividad antioxidante (AAox)	120
6. Análisis sensorial.....	122
IX. CONCLUSIONES.....	128
X. BIBLIOGRAFIA.....	131

ABREVIATURAS	151
ANEXOS	153
A. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HARINA DE AMARANTO.....	153
B. PROCESO DE DESENGRASADO DE LA HARINA DE AMARANTO.....	154
C. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LECHE DE AMARANTO	155

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Prevalencia de sobrepeso y obesidad en México	9
2	Estructura química de algunos carotenos	29
3	Estructura química de algunas xantofilas	31
4	Clasificación de los métodos empleados en microencapsulación de compuestos bioactivos	39
5	Modelo matemático de la “caja negra” que muestra la relación entre variables de proceso de microencapsulación y de las variables de respuesta de los microencapsulados	59
6	Diagrama del proceso de generación del radical ABTS ^{•+}	65
7	Diagrama del proceso de obtención del concentrado de proteína de amaranto	69
8	Diagrama del proceso de obtención de la leche de amaranto	70
9	Diagrama del proceso de obtención de las bebidas a base de amaranto	72
10	Diagrama de obtención de la bebida tipo limonada	73
11	Gráficos de superficie de respuesta para el rendimiento de microencapsulación (R) como función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y la temperatura de entrada del aire (TA) a tres diferentes flujos de alimentación: (a) 6mL/min; (b) 7 mL/min; (c) 8 mL/min	89
12	Gráficos de superficie de respuesta la concentración de astaxantina ([Ast]) como función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y la temperatura de entrada del aire (TA) a tres diferentes flujos de alimentación: (a) 6mL/min; (b) 7 mL/min; (c) 8 mL/min	90
13	Gráfico de contornos para la deseabilidad global (D) mostrando la región con la mejor combinación de las variables del proceso de microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersión	94
14	Gráficas mostrando las rampas y valores de deseabilidad individual de las variables de respuesta, los valores óptimos de las variables del proceso (AE,TA, Flujo) y valores predichos de R y [Ast] en las condiciones optimas de procesamiento	97

15	Gráfico de color CIEL*a*b* para los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)	102
16	Micrografías (MEB) de los microencapsulados de astaxantina optimizados a diferentes magnificaciones: (a) 2000x; (b) 2500x y (c) 300x	105
17	Micrografías (MEB) de los microencapsulados de astaxantina optimizados a 5000x, en 2 diferentes campos de observación	106
18	Gráfica mostrando los resultados de las propiedades sensoriales de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	123

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Clasificación de obesidad en base al Índice Masa Corporal (IMC)	10
2	Composición química de granos de varias especies de amaranto	23
3	Estudio de funciones biológicas de la astaxantina en humanos	35
4	Estudio sobre aplicaciones de astaxantina en alimentos	37
5	Sistemas utilizados en la estabilización de astaxantina	40
6	Materiales de encapsulamiento	43
7	Factores (variables de proceso) y niveles utilizados para el Diseño Experimental Box-Behnken	54
8	Diseño experimental utilizado para obtener diferentes combinaciones de agente encapsulante (AE), temperatura de entrada del aire de secado (TA) y flujo de alimentación (Flujo) para obtener microencapsulados de astaxantina mediante secado por aspersión, y variables de respuesta estudiadas	56
9	Resultados experimentales de rendimiento y concentración de astaxantina evaluados en microencapsulados de astaxantina obtenidos mediante secado por aspersión con diferentes condiciones de procesamiento	82
10	ANOVA y análisis de regresión para la variable de respuesta rendimiento (R) del proceso microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersión	84
11	ANOVA y análisis de regresión para la variable de respuesta concentración de astaxantina en microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión	85
12	Condiciones óptimas de las variables de proceso para obtener microencapsulados de astaxantina con valores altos de rendimiento de microencapsulación (R) y de concentración de astaxantina [Ast]	96
13	Valores teóricos y experimentales de las variables de respuesta evaluadas en microencapsulados de astaxantina optimizados obtenidos mediante secado por aspersión	99

14	Resultados de propiedades de flujo de los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)	108
15	Formulación de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)	112
16	Composición química de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	113
17	Cálculo del contenido energético por porción (200 mL) de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	115
18	Información nutrimental de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	116
19	Propiedades fisicoquímicas de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	117
20	Concentración de astaxantina en las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)	119
21	Actividad antioxidante de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	121
22	Propiedades sensoriales de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial	124

I. RESUMEN

La astaxantina es un poderoso antioxidante, sin embargo, su naturaleza lipofílica y alta inestabilidad limitan su uso en matrices acuosas, como bebidas. Es por ello que, el objetivo de este estudio fue optimizar el proceso de microencapsulación de astaxantina con maltodextrina y goma arábica mediante secado por aspersion para la obtención de microencapsulados con rendimiento (R) y concentración de astaxantina ([Ast]) altos para utilizarse en la formulación de bebidas con potencial antioxidante alto. Las variables independientes fueron el porcentaje de agente encapsulante (% AE), la temperatura de entrada de aire (TA) y el flujo de alimentación del secador (Flujo). Las variables de respuesta fueron el R y [Ast] de los microencapsulados. Las condiciones óptimas para la obtención de los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) fueron 20 % AE, 155 °C de TA y un Flujo de 7.5 mL/min. Los resultados experimentales de R y [Ast] en los MAO fueron similares a los valores teóricos arrojados por los modelos de predicción. Los MAO tuvieron buenas propiedades fisicoquímicas [tiempo de dispersión en agua bajo (13 min) y solubilidad en agua alta (95.9 %)], con eficiencia de microencapsulación y actividad antioxidante (AAox) altas ($\approx 90\%$ y 22.05 mmol ET/ 100 g de MAO, respectivamente). Asimismo, los MAO presentaron una morfología predominantemente esférica (tamaño de partícula = 1 - 14 μm), sin grietas, ni fisuras aparentes. Se desarrollaron tres modelos de bebidas funcionales adicionadas con MAO: Bebida 1 (B1) = bebida a base de concentrado de proteína de amaranto obtenido por extracción alcalina y precipitación ácida; Bebida 2 (B2): bebida a base de leche de amaranto

obtenida por extracción acuosa; Bebida 3 (B3) = bebida a base de jugo de limón y pulpa de fresa (tipo limonada). En la formulación de las bebidas se utilizaron estevia, pectina y ácido cítrico como edulcorante, estabilizante y acidulante, respectivamente. La bebida 3 (limonada) presentó mayor actividad antioxidante que las bebidas elaboradas a base de amaranto (B1 y B2) (1150.13 vs 703.88-783.3 μ moles ET/ 200 mL), y la adición de 1% (p/p) de MAO a las bebidas incrementó (+82-126%) significativamente su actividad antioxidante. Las bebidas adicionadas con MAO, de acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial, presentaron buena aceptabilidad global (AG). La bebida B1 presentó la AG más alta (se ubicó entre los descriptores “me gusta moderadamente” y “me gusta mucho”), seguida de la bebida B3, la cual presentó una AG similar a una bebida comercial a base de extracto de soya y jugo de frutas (B4) (se ubicaron entre los descriptores “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”); mientras que, la bebida B2 presentó los valores de AG menores (se ubicó entre “ni me gusta, ni me disgusta” y “me gusta ligeramente”). Con base en los resultados, se puede decir que, la microencapsulación mediante secado por aspersion, puede ser utilizada como una vía de incorporación de compuestos bioactivos liposolubles en matrices alimentarias acuosas, para el desarrollo de productos funcionales con potencial para la promoción de la salud de los consumidores.

ABSTRACT

Astaxanthin is a powerful antioxidant, however, its lipophilic nature and high instability limit its use in aqueous matrices, such as beverages. Thus, the objective of this study was to optimize the microencapsulation process of astaxanthin with maltodextrin and arabic gum by spray drying to obtain microencapsules with high yield (Y) and high astaxanthin concentration ([Ast]) for use in the formulation of beverages with high antioxidant potential. The independent variables were the percentage of encapsulating agent (% EA), the air inlet temperature (AT) and the dryer feed flow (Flow). The response variables were Y and [Ast] of the microencapsulates. The optimal conditions for obtaining the optimized astaxanthin microencapsules (OAM) were 20% EA, 155 ° C of AT and a Flow of 7.5 mL / min. The experimental results of Y and [Ast] in the OAMs were similar to the theoretical values produced by the prediction models. OAMs had good physicochemical properties [low water dispersion time (13 min) and high water solubility (95.9%)], with high microencapsulation efficiency and high antioxidant activity (AoxA) ($\approx 90\%$ and 22.05 mmol TE / 100 g of OAM, respectively). Likewise, the OAMs presented a predominantly spherical morphology (particle size = 1-14 μm), with no cracks or apparent fissures. Three models of functional beverages added with OAMs were developed: Beverage 1 (B1) = beverage based on amaranth protein concentrate obtained by alkaline extraction and acid precipitation; Beverage 2 (B2): amaranth milk based beverage obtained by aqueous extraction; Beverage 3 (B3) = beverage based on lemon juice and strawberry pulp (lemonade type). In the beverage formulation stevia, pectin and citric acid were used as a sweetener, stabilizer and acidifier, respectively. Beverage 3 (lemonade) exhibited greater antioxidant activity than

amaranth-based beverages (B1 and B2) (1150.13 vs. 703.88-783.3 μ moles TE / 200 mL), and the addition of 1% (w / w) of OAMs to beverages significantly increased (+ 82-126%) its antioxidant activity. Beverages added with OAMs, according to the results of the sensory evaluation, presented good overall acceptability (OA). The B1 beverage had the highest AG (it was among the descriptors “like moderately” and “like very much”), followed by the B3 beverage, which presented an AG similar to a commercial beverage based on soy extract and fruit juice (B4) (they were among the descriptors “like slightly” and “like moderately”); while, the B2 beverage presented the lower AG values (neither like nor dislike” and “like slightly”). Based on the results, it can be said that microencapsulation by spray drying can be used as a route of incorporation of fat-soluble bioactive compounds in aqueous food matrices, for the development of functional products with potential for health promotion of the consumers.

II. INTRODUCCIÓN

Las prevalencias de sobrepeso, obesidad y diabetes han aumentado con rapidez en México y las bebidas representan la quinta parte de la energía que consumen los mexicanos. La evidencia señala que las bebidas con aporte energético incrementan el riesgo de obesidad (Rivera y col 2008).

La ingestión de energía proveniente de las bebidas representa alrededor del 20% del consumo total de energía de adolescentes y adultos mexicanos, una verdadera preocupación para la salud pública en México. Esta cantidad de calorías de los líquidos, que procede en particular de las bebidas azucaradas (refrescos, jugos, té), leche entera y alcohol (en varones), se adiciona a la energía proveniente de los alimentos de la dieta y contribuye al consumo excesivo de energía vinculado con la obesidad y la diabetes (Rivera y col 2008).

Muchos productos naturales ricos en antioxidantes son ampliamente usados para detener el avance de las complicaciones de dichas enfermedades, ya sea previniendo o retrasando el desarrollo de este tipo de desórdenes (Ruiz-Canizales 2015).

El creciente interés de la sociedad por mejorar la salud a través de la alimentación, ha propiciado cambios en la dieta convencional como es la introducción de alimentos funcionales y nutraceuticos. Para satisfacer esta demanda, la industria requiere nuevas fuentes de extracción de compuestos bioactivos para enriquecer sus productos (Ruiz-Canizales 2015).

Entre los compuestos bioactivos se pueden mencionar a los carotenoides, los cuales poseen uno o varios mecanismos de acción, como pueden ser: acción antioxidante, acción hipolipidémica, hipotrigliceridemiante, reducción de la tensión

arterial, mejoramiento de padecimientos artrítico-reumáticos, reducción del envejecimiento celular, supresión de los radicales libres, reducción del riesgo de enfermedades, reducción del riesgo de trastornos hepáticos y renales, entre otros (Gavilán-Bravo 2017). Entre los carotenoides que pueden presentar una o varias de estas propiedades saludables para el organismo se encuentran el β -caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina y astaxantina.

La Astaxantina es un carotenoide natural presente en varios microorganismos y organismos marinos, la cual posee propiedades antioxidantes superiores a las de otros compuestos como la vitamina E, sin embargo, la aplicación de astaxantina como ingrediente alimentario está actualmente limitado por su baja solubilidad en agua y su alta inestabilidad, ya que la astaxantina se degrada rápidamente en presencia de oxígeno y luz (Bustos-Garza y col 2013; Ambati y col 2014; Shen y Quek 2014).

La microencapsulación puede ayudar a superar los problemas asociados con la naturaleza intrínseca de la astaxantina, esta técnica, consiste en el recubrimiento de un principio bioactivo con una matriz polimérica inerte, creando así una barrera que retarda las reacciones entre el compuesto bioactivo y el medio ambiente. Entre los métodos de microencapsulación, el secado por aspersión, es el más utilizado en la industria alimentaria debido a su bajo costo y versatilidad (Franco-Zavaleta 2010; Parra-Huertas 2010).

Por ello, en el presente estudio se planteó como objetivo optimizar el proceso de microencapsulación de astaxantina con maltodextrina y goma arábiga mediante secado por aspersión para la obtención de microencapsulados con rendimiento (R) y

concentración de astaxantina ([Ast]) altos para utilizarse en la formulación de bebidas, a base de amaranto y jugos de frutas, con potencial antioxidante alto.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A. OBESIDAD

La obesidad es una enfermedad sistémica, crónica y multicausal, que involucra a todos los grupos de edad, de distintas etnias y de todas las clases sociales. La obesidad se define como un aumento de la grasa corporal en proporción a la altura del paciente. Esta patología es la alteración nutricional más frecuente en el mundo desarrollado y actualmente ha alcanzado proporciones significativas en los países en vías de desarrollo. Se asocia con un aumento de la morbilidad y una disminución de la esperanza de vida (Barrera-Cruz y col 2013).

La encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2018 reportó que, en México, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad es del 76.8% para las mujeres y 73.0% para los hombres (**Figura 1**).

Tanto el sobrepeso como la obesidad resultan de una compleja interacción entre los genes y el ambiente, donde se evidencia un desequilibrio de energía debido a un estilo de vida sedentario y un consumo excesivo de energía. Los cambios en la alimentación y en el estilo de vida que acompañan a la urbanización y el desarrollo de las sociedades han favorecido la expresión de los genes que predisponen a la obesidad, acompañados de los cambios en los patrones de salud y enfermedad. Este exceso de grasa corporal representa un factor de riesgo que aumenta tanto la morbilidad como la mortalidad (Leal 2016).

El diagnóstico de obesidad se establece con la medición del IMC (Índice de Masa Corporal: peso en kilogramos dividido por la altura en metros al cuadrado). Un IMC entre 25 y 29,9 kg/m² determina el diagnóstico de sobrepeso (**Cuadro 1**), mientras que, un valor mayor o igual a 30 kg/m² se considera como obesidad (OMS 2000).

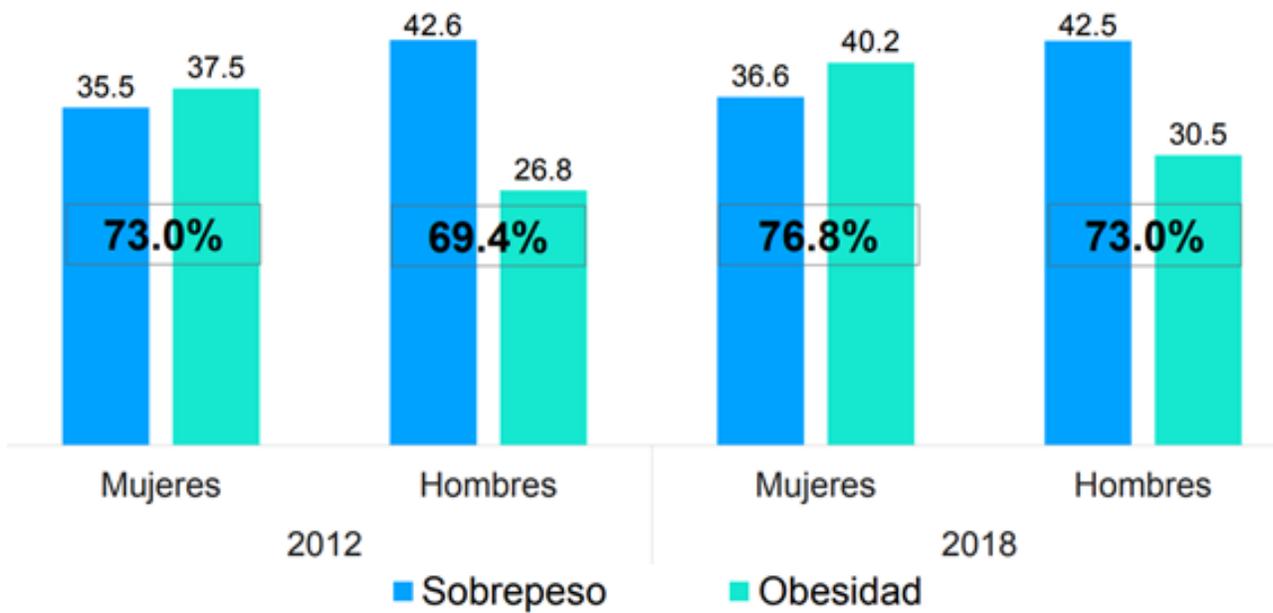


Figura 1. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en México (ENSANUT 2018).
Fuente: INSP y INEGI 2019.

Cuadro 1. Clasificación de obesidad en base al índice de masa corporal (IMC)

Clasificación	IMC	Clase de obesidad
Bajo peso	<18.5	
Normal	18.5 -24.9	
Sobrepeso	25 - 29.9	
Obesidad	30 – 34.9	I
	35 – 39.9	II
Obesidad extrema	> 40	III

Fuente: OMS 2000.

B. COMPLICACIONES ASOCIADAS A LA OBESIDAD

La obesidad predispone al riesgo de alteraciones metabólicas y fisiológicas en órganos como el hígado, riñón, músculo esquelético y tejido adiposo, generando hiperlipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión e hígado graso. Estas alteraciones conforman el síndrome metabólico y se asocian con el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como lo son las enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo II (Haoneng y Lingli 2010).

1. Resistencia a la insulina (RI) y diabetes tipo II

La diabetes es una afección crónica que se desencadena cuando el organismo pierde su capacidad de producir suficiente insulina o de utilizarla con eficacia. Como resultado, una persona con diabetes no absorbe la glucosa adecuadamente, de modo que ésta, queda circulando en la sangre (hiperglucemia) y dañando los tejidos con el paso del tiempo. Este deterioro causa complicaciones para la salud potencialmente letales. Hay 3 tipos de diabetes: diabetes mellitus tipo I, II y gestacional.

La diabetes tipo II es el tipo más común de diabetes. Generalmente ocurre en adultos, pero se ve cada vez más en niños y adolescentes. En la diabetes tipo II, el cuerpo es capaz de producir insulina, pero se vuelve resistente a ella, de modo que la insulina es ineficaz. Con el tiempo, los niveles de insulina pueden llegar a ser insuficientes. Tanto la resistencia, como la deficiencia de insulina pueden llevar a niveles de glucosa en sangre altos (FID 2015).

La insulina es una hormona anabólica secretada por las células beta del páncreas en respuesta a diversos estímulos, siendo la glucosa el más relevante (Orci

1985). Su principal función es mantener la homeostasis de glucosa y de otros sustratos energéticos en la sangre.

De esta forma, posterior a cada comida la insulina suprime la liberación de ácidos grasos libres mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo (McGarry 1992). En un estado de RI, la acción de esta hormona a nivel celular está reducida, lo que aumenta la secreción de insulina. Esto permite compensar el defecto en la acción tisular y así mantener la homeostasis glicémica (Galgani y Ravussin 2012). Este fenómeno da cuenta del estado hiperinsulinémico, el cual es característico en sujetos con RI, particularmente después de una comida alta en carbohidratos (Carrasco y col 2013).

2. Aterosclerosis y presión arterial

Obesidad y aterosclerosis son procesos multifactoriales entre los que existen numerosos puentes de unión que explican, en parte, la mayor morbimortalidad cardiovascular del obeso (Zugasti-Murillo y Basilio-Moreno 2005).

La aterosclerosis se produce cuando los vasos sanguíneos que llevan el oxígeno y los nutrientes del corazón al resto del organismo (arterias) se engrosan y endurecen, restringiendo a veces el flujo sanguíneo a los órganos y a los tejidos. Las arterias saludables son flexibles y elásticas, pero con el tiempo, sus paredes pueden endurecerse, afección comúnmente denominada «endurecimiento de las arterias». La aterosclerosis hace referencia a la acumulación de grasas, colesterol y otras sustancias en el interior de las arterias y en sus paredes (placas), lo que puede

restringir el flujo sanguíneo. Esas placas pueden explotar y desencadenar un coágulo sanguíneo. Si bien, a menudo, se considera que la aterosclerosis es un problema cardíaco, puede afectar a las arterias en cualquier lugar del cuerpo (Muntaner y col 1999).

Una vez que se daña la pared interna de una arteria, las células sanguíneas y otras sustancias generalmente se aglomeran en el lugar de la lesión y se acumulan en el revestimiento interno de la arteria. Con el tiempo, los depósitos de grasa (placas) hechas de colesterol y otros productos celulares también se acumulan en el lugar de la lesión y se endurecen, lo cual hace que se estrechen las arterias. Por lo tanto, los órganos y tejidos conectados a las arterias bloqueadas no reciben suficiente sangre para funcionar correctamente (Mayo 2018).

Es posible que partes de los depósitos de grasa se desprendan e ingresen al torrente sanguíneo. Asimismo, el revestimiento fluido de una placa puede romperse, lo cual derrama colesterol y otras sustancias en el torrente sanguíneo. Esto puede causar un coágulo sanguíneo, lo cual puede bloquear el flujo de sangre a una parte específica del cuerpo, como ocurre cuando se bloquea la sangre que fluye al corazón y se produce un ataque cardíaco. Un coágulo sanguíneo también puede dirigirse a otras partes del cuerpo y bloquear el flujo a otros órganos (Mayo 2018).

Las complicaciones de la aterosclerosis, dependen de las arterias que están bloqueadas. Por ejemplo:

- Enfermedad de las arterias coronarias.
- Enfermedad de las arterias carótidas.
- Enfermedad arterial periférica.
- Enfermedad renal crónica.

Algunos autores han postulado que las alteraciones estructurales renales como la crónicamente deficitaria, conducirían a largo plazo a la hipertensión y la insuficiencia renal (Marin y col 2002).

La hipertensión es una situación caracterizada por el incremento de la resistencia periférica vascular total, que trae aparejado el aumento de la tensión arterial por encima de 140 mm de Hg de sistólica y 90 mm de Hg de diastólica, de ahí que, la enfermedad hipertensiva sea el síndrome constituido por los signos y síntomas derivados de esa situación, con repercusión especial sobre algunos órganos (sistema nervioso central, corazón, riñones y sistema vascular periférico) (Gamboa-Gómez 2014).

3. Estrés oxidativo

En la obesidad existe un incremento del estado oxidativo debido a la acumulación de grasa. La producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) se incrementa selectivamente en el tejido adiposo, acompañado por un aumento de la actividad de la enzima NADPH oxidasa, disminuyendo los sistemas de defensa antioxidante endógenos (Furukawa y col 2004).

Las ROS se forman por la reducción secuencial del oxígeno (O_2), que primero produce el radical superóxido (O_2^-), producido por la reducción de un electrón de oxígeno por algunas oxidasas, incluyendo NADPH oxidasa; así mismo, el radical superóxido puede ser generado por la cadena mitocondrial durante el transporte de electrones en el curso de la fosforilación oxidativa. El radical perhidroxilo generado por el peróxido de hidrógeno, que, si no se degrada por la catalasa o glutatión

peroxidasa en presencia de metales de transición, puede finalmente conducir a la producción de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) muy reactivos (Vilar-Rojas y col 1996).

Los niveles excesivamente altos de radicales libres causan daño a las proteínas celulares, los lípidos de membrana y ácidos nucleicos, causando eventualmente la muerte celular (Maritim y col 2003).

a. Daño a lípidos

La oxidación de los lípidos de la membrana celular provoca alteraciones en la permeabilidad, o la pérdida de la integridad de la membrana plasmática, así como la de los organelos celulares. Los ácidos grasos poliinsaturados, que predominantemente se ubican en las membranas celulares, son particularmente susceptibles al ataque de los radicales libres. Cuando los radicales hidroxilo se forman cerca de la membrana son capaces de extraer átomos de hidrógeno de los fosfolípidos que los componen, después de esta reacción aunque el hidroxilo original sea inactivado, se forma un radical lipídico que después de un re-arreglo molecular, puede reaccionar con el oxígeno para originar radical peroxilo (ROO). Éste a su vez, puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana, formando más radicales lipídicos, mientras él mismo se transforma en hidroperóxido (R-OOH) y, en presencia de varios complejos metálicos, puede descomponerse en más radicales, incluyendo entre ellos, al radical hidroxilo, provocando con ello un fenómeno de expansión del daño (Saran y col 1990).

De tal manera que las ROS son moléculas muy reactivas entre las que se encuentran los iones de oxígeno, los radicales libres y los peróxidos. Su gran

reactividad se debe a que poseen electrones desapareados que les hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción (Bayr 2005).

Las ROS tienen una vida media muy corta y son difíciles de medir directamente. En su lugar, lo que se puede medir son varios productos de los daños producidos por el estrés oxidativo, tales como sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS). Las TBARS se forman como un subproducto de la peroxidación lipídica (Pryor y col 1991).

b. Daño a proteínas

En proteínas y carbohidratos, los radicales libres pueden inducir la fragmentación de cisteína, de los enlaces disulfuro, enlaces peptídicos y de aminoácidos aromáticos, lo que conlleva a una alteración en su estructura y función. Así mismo, diversas reacciones de oxidación o radicales como el radical hidroxilo pueden convertir algunos residuos de aminoácidos y causarles modificaciones, algunas de las alteraciones conformacionales provocadas por radicales libres están relacionadas con la pérdida de la actividad catalítica de enzimas. La gran mayoría de los daños ocasionados por los radicales libres a estas biomoléculas pueden ser las causantes de ciertas enfermedades y sus complicaciones (Beckman y col 1994).

c. Sistema de defensa antioxidante

El organismo puede sobrevivir al daño generado por altas concentraciones de radicales libres, debido a que tiene un eficiente sistema de defensa antioxidante. Este sistema de defensa antioxidante está conformado por mecanismos enzimáticos y no enzimáticos (Khan y col 2010).

Dentro del sistema de defensa antioxidante endógeno existen enzimas antioxidantes con diferentes funciones en cada línea de defensa. Estas enzimas son la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peróxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y glutatión-S-transferasa (GST). La enzima CAT cataliza la disociación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a oxígeno molecular y agua. Esta enzima se localiza principalmente en el peroxisoma de las células, su mayor actividad se ha observado en el hígado y los eritrocitos, aunque también se encuentra en menor concentración en otros tejidos (Khan y col 2010).

La enzima SOD constituye la primera línea de defensa antioxidante y cataliza la reacción de dismutación del radical superóxido (O_2^-) a peróxido de hidrógeno, el cual puede ser removido por las enzimas CAT y GPx (Willcox y col 2004; Khan y col 2010).

La enzima GPx cataliza la oxidación de glutatión a expensas del H_2O_2 u otro hidroperóxido (ROOH). La actividad de esta enzima depende de una constante disponibilidad de glutatión reducido (GSH). La relación entre glutatión reducido y oxidado (GSSG) se mantiene alta en condiciones normales debido a la actividad enzimática glutatión reductasa (GR). Este ciclo de oxidación-reducción del glutatión es la mayor fuente de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo (Khan y col 2010).

Por otro lado, el GSH es un factor de la enzima glutatión-S-transferasa (GST), la cual cataliza una reacción de biotransformación de fase II, para la eliminación de xenobióticos. Esta reacción de conjugación consiste en adicionar glutatión a través de su grupo sulfhidrilo, a un xenobiótico (Khan y col 2010).

Dichos mecanismos de defensa antioxidante se ven severamente afectados por la obesidad, ya que ésta disminuye sus niveles tanto en suero como en órganos (Furukawa y col 2004).

C. BEBIDAS FUNCIONALES COMO ALTERNATIVA CONTRA LA OBESIDAD

En países como México, se ha determinado que alrededor del 20% de las calorías que se consumen, provienen de las bebidas, particularmente de las bebidas azucaradas (refrescos, jugo, té), leche entera y bebidas alcohólicas. Estas calorías que aportan los líquidos se suman a las calorías provenientes de los alimentos de la dieta y contribuyen al consumo excesivo de energía, que está relacionado con la aparición de sobrepeso, obesidad y diabetes (Rivera y col 2008).

Debido a ello diversos sectores han sido considerados en las recomendaciones establecidas por la OMS (“Plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles 2013-2020”), bajo el rol de promover la investigación y el desarrollo de una mayor oferta de alimentos y bebidas con nuevos perfiles nutricionales cuya finalidad sea la de colaborar con el trabajo de frenar la epidemia de las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), entre las que se encuentran la obesidad, diabetes y dislipidemias (Secretaría de Salud 2013; Leal 2016).

Las metas planteadas en dicho plan se relacionan con la reducción de mortalidad global por complicaciones debido ECNT, reducción de la prevalencia de hipertensión, detener el incremento de diabetes y obesidad, entre otras. Dentro de las estrategias preventivas implementadas para promover estilos de vida saludables, se incluyen

aquellas vinculadas con fomentar el consumo de alimentos y bebidas de baja densidad energética y ricos en compuestos bioactivos (Leal 2016).

La relación entre la obesidad y sus comorbilidades, suele estar vinculada a una serie de deficiencias metabólicas acompañada por desórdenes del estrés oxidativo. Por lo que, las bebidas enriquecidas con antioxidantes, se podrían aplicar en la terapia nutricional de la obesidad para mejorar el daño oxidativo y disminuir los efectos dañinos asociados con el aumento de peso (Crujeiras y col 2008).

1. Bebidas Funcionales

Las bebidas funcionales pueden definirse como aquellas presentaciones listas para consumirse que contienen en su formulación uno o más ingredientes funcionales no tradicionales, que demuestran ser benéficos para la salud reduciendo así el riesgo de enfermedades (ADA 2009; Cofrades 2013).

Las bebidas funcionales ofrecen beneficios para la salud y el autocuidado; pueden ser naturalmente funcionales como el té (el cual contiene antioxidantes de forma natural) o pueden adicionarse ciertos compuestos bioactivos como omegas, proteínas, fibras, prebióticos, probióticos, antioxidantes, vitaminas, minerales y otros ingredientes que le confieren beneficios específicos que pueden ser declarados en el producto (Fernández-Herrera 2018).

En base a sus propiedades (nutritivas, refrescantes, estimulantes y saludables), las bebidas funcionales han generado el mayor número de nuevos productos en la clasificación de bebidas a nivel mundial, pero además es una de las áreas de mayor crecimiento en la industria de alimentos y bebidas (Rivera y col 2008).

a. Bebidas funcionales a base de semillas

Las bebidas a base de semillas han comenzado a popularizarse en todo el mundo, sobre todo por el creciente número de personas que tratan de consumir alimentos nutritivos, con bajo contenido calórico y de fácil digestión que les ayuden a contrarrestar los efectos de la vida moderna. Sus usos son los mismos que la leche de vaca, se pueden tomar solas o endulzadas, con café, cereales y otros. Más aún, estas bebidas, cuyo aspecto y consistencia recuerda a la leche de vaca, también deben parte de su creciente aceptación a que son excelente opción para quienes siguen un régimen alimenticio vegetariano o sufren trastornos digestivos, ya que, al carecer de lactosa, estas bebidas pueden ser ingeridas por personas intolerantes a este azúcar, además de que son una alternativa para las personas alérgicas a las proteínas de la leche de vaca. Otra ventaja importante, es que estas bebidas contienen menos grasa que la leche de vaca y la mayoría de sus lípidos son poliinsaturados y benefician la salud cardiovascular (Soteras 2011).

Se derivan de cereales (arroz, avena), leguminosas (soya) o frutos secos (almendras, avellanas); debido a su sabor y, ante todo, por su alto contenido de vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos y otras sustancias, son especialmente indicadas para niños, adolescentes, personas convalecientes y madres lactantes, ya que mejoran de la actividad mental, contribuyen al funcionamiento de los sistemas circulatorio y nervioso, y fortalecen las defensas del organismo (Soriano-García 2008).

En esencia, las bebidas vegetales se obtienen a través de la trituración de semillas a las cuales se les agrega agua y algún producto que mejore su sabor y permita su almacenamiento por más tiempo. En el mercado internacional existen

varias de estas bebidas y al ser elaboradas mediante sistemas industriales especializados, rescatan importantes cantidades de nutrientes, a excepción de la fibra. Se pueden obtener bebidas vegetales a partir de semillas licuadas, con similares texturas a las de origen animal, pero con mejor sabor, mayor calidad nutricional, alto poder revitalizante y prácticamente ningún efecto negativo (Soteras 2011).

En la mayoría de los casos, es absolutamente recomendable y necesario, el proceso previo de activación (remojado) de las semillas a utilizar. Esta hidratación, no solo activa importantes procesos transformativos a nivel nutricional, sino que facilita el procesamiento, mejora la textura del producto final y optimiza su digestibilidad. Para obtener mejores resultados en las “leches”, es aconsejable un proceso de molienda o licuado intenso para desmenuzar adecuadamente la semilla y permitir la máxima transferencia de nutrientes al agua, para posteriormente terminar con un filtrado (Palmetti 2010).

1) Bebida a base de soya

Una de las bebidas de semillas más difundidas es la “leche de soya”. Ésta es básicamente un extracto acuoso de la semilla de soya, pareciéndose a la leche de mamíferos en apariencia y composición. Este tipo de producto históricamente se obtenía a nivel familiar o en pequeña escala en países orientales como China, Japón, Tailandia, Indonesia, Filipinas, etc., pero en las últimas décadas se fue desarrollando su elaboración a escala industrial (Saunders y Becker 1984).

Las primeras elaboraciones de “leche de soya” en EUA estaban destinadas a la población de origen oriental, pero los avances en procesamiento y una mayor cultura

de prevención en salud han expandido su presencia en el mercado alimenticio, llegando a ser el principal producto de soya consumido regularmente (Scilingo y col 2002).

Inicialmente se envasaba asépticamente en cartones, conservándose sin refrigeración, dando una imagen “fresca” que permite venderla a la par de la leche vacuna. En los países occidentales hay una variedad de productos de este tipo: natural, saborizada, fortificada (con calcio, vitaminas, otros minerales, etc.), combinada con jugos de fruta (para hacer su sabor más agradable), concentrada, en polvo para reconstituir, etc. (Soriano-García 2008; Scilingo y col 2002).

2) Bebida a base de amaranto

El amaranto es un pseudocereal originario de América Central, muy común en la dieta de América precolombina (Escudero y col 2004).

Amaranthus es uno de los 70 géneros que conforman la familia Amaranthaceae, y el género comprende alrededor de 60 especies, de las cuales, 3 especies se cultivan actualmente para el consumo de sus semillas: *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* nativas de México y Guatemala y *A. caudatus* nativa de las regiones Andinas de Ecuador, Perú y Bolivia (Sauer 1967).

El 26% de la semilla de amaranto está constituido por el germen, rico en aceite y proteínas y el salvado que contiene proteínas, vitaminas, fibra y minerales y el 74% por harina que está compuesta principalmente de almidón (National Academy of Science 1984). En el **Cuadro 2** se muestra la composición química aproximada reportada de granos de algunas especies de amaranto.

Cuadro 2. Composición química de granos de varias especies de amaranto

Componente	A. <i>caudatus</i>	A. <i>cruentus</i>	A. <i>hypochondriacus</i>	A. <i>spp*</i>
Carbohidratos (g/ 100 g)	59.6- 62.8	60.7- 62.6	57.0	65.25
Proteína cruda ^a (g/ 100 g)	17.6- 18.4	13.2- 18,2	17.9	12.6- 15.0
Grasa (g/ 100 g)	6.9- 8.1	6.3- 8.1	7.7	6.3- 8.4
Fibra cruda (g/ 100 g)	3.2- 5.8	3.6- 4.4	2.2	6.3- 7.4
Cenizas (g/ 100 g)	3.1- 4.4	2.8- 3.9	4.1	2.1- 3.2
Humedad (g/100 g)	9.5- 11.6	6.2- 8.8	11.1	10.6- 12.1

^a N x 5.85

Fuente: Polanco-Murrieta 2017; USDA 2019*

Las proteínas de amaranto presentan un perfil de aminoácidos muy cercano al óptimo recomendado por la FAO/WHO, tiene altos niveles del aminoácido lisina, que es escaso en la mayoría de los cereales, contiene casi el doble de lisina que la proteína del trigo y el triple que la proteína del maíz (Paredes-López y Hernández-López 1992); además de lisina presenta altos contenidos de arginina y triptófano (Juan y col 2007).

Los aminoácidos más escasos son leucina, valina, treonina e isoleucina, sin embargo, la cantidad de treonina es suficiente para satisfacer las necesidades nutricionales según los valores recomendados por la FAO/WHO (Becker y col 1981; Juan y col 2007) y la leucina se encuentra en abundancia en la mayoría de los cereales y leguminosas.

La proteína de amaranto, con un valor biológico de 75, se acerca más que los demás granos proteicos al balance perfecto de aminoácidos esenciales que en teoría sería de 100 en la escala de calidad de las proteínas basada en la composición aminoacídica, mientras que la puntuación de granos como el maíz es de alrededor de 44, el trigo 60, la soya 68 y la leche de vaca 72 (National Academy of Science 1984).

En las proteínas de amaranto, en general, la fracción mayoritaria es la de albúminas (32-33%), seguida por las fracciones de glutelinas (26.5-30%), globulinas (19.5-20.5%) y en una menor proporción prolaminas (1.6-3%) (Leyva-Lopez y col 1995).

Las prolaminas son consideradas como tóxicas para personas con enfermedad celiaca, por lo que el bajo contenido de prolaminas en la proteína de amaranto la convierte en una excelente opción alimenticia (Schoenlechner y col 2010).

El amaranto presenta un interés excepcional debido a sus efectos nutricionales y sobre la salud que provienen de su consumo (Soteras 2011). Por ejemplo: numerosos estudios han demostrado que la fracción lipídica y/o los péptidos bioactivos del mismo presentan propiedades hipocolesterolémicas (Plate y Areas 2002; Berger y col 2003) y antihipertensivas (Becker y col 1981; Becker 1989; He y Corke 2003).

Su consumo ha sido recomendado como un producto alimenticio funcional para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares e hipertensión (Martirosyan y col 2007).

La formulación de una bebida a base de semillas de amaranto podría ofrecerse a los consumidores en general y a una fracción determinada de la población con alguno de estos trastornos, beneficios directos sobre la salud humana, cumpliendo las premisas de un “Bebida Funcional” (Soteras 2011).

La producción de una bebida o “leche” a base de amaranto contempla procesos similares a los establecidos para obtener “leche” de soya; debiéndose también poner énfasis en la formulación final del producto en cuanto a sus condiciones higiénico-sanitarias y sensoriales para lograr una aceptación adecuada (Soriano-García 2008; Soteras 2011).

b. Bebidas funcionales a base de frutas

El segmento de jugos y néctares también se ha visto influenciado por la tendencia de los alimentos funcionales, de ahí la importancia de que los ingredientes de estas bebidas incluyan fuentes de fibra, vitaminas antioxidantes, extractos botánicos, entre otros que aporten beneficios o prevengan enfermedades. Dentro de los compuestos antioxidantes presentes en este tipo de bebidas se incluyen

compuestos fenólicos, vitaminas antioxidantes, así como carotenoides (Calvo-Carrillo y col 2006).

D. USO DE CAROTENOIDES EN BEBIDAS FUNCIONALES

Los carotenoides, empleados en condiciones, dosis de uso y procedimientos de adición adecuados y específicos a determinados tipos de matrices alimentarias, son capaces de impartir efectos beneficiosos muy importantes y útiles (Meléndez-Martínez 2017).

Estudios epidemiológicos han asociado niveles circulantes altos de β -caroteno y otros carotenoides, con un menor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y metabólicas (Krinsky y Johnson, 2005).

1. Carotenoides

a. Definición

El término carotenoide procede del nombre científico de la zanahoria (*Daucus carota* L.), que fue la fuente de la que Wackenroder logró aislarlos, desde entonces, los carotenoides han sido objeto de numerosas investigaciones acerca de sus funciones y propiedades (Meléndez-Martínez 2017).

Además de impartir color, los carotenoides sirven para la absorción de energía luminosa y, por tanto, tienen poder antioxidante al interrumpir las reacciones mediadas por radicales libres, sin modificar su estructura. Además, algunos de ellos son precursores de la vitamina A, entre otras funciones (De la Fuente y Oyarzún 2006).

Los carotenoides son hidrocarburos poliénicos, por tanto, presentan cadenas de dobles enlaces conjugados. Esta parte de la molécula, denominada cromóforo, es la responsable de la capacidad de los carotenoides de absorber luz en la región visible y explica el color intenso de estos compuestos (Guerrero-Legarreta y col 2006).

El espectro de absorción tiene máximos cuyas longitudes de onda dependen del número de los dobles enlaces. Se requiere de, al menos, siete enlaces conjugados para que estos compuestos produzcan color (Rodríguez-Amaya 1997).

En general, los carotenoides son compuestos tetraterpenoides compuestos de 40 átomos de carbono conformados por 8 unidades de isoprenoides (Meléndez-Martínez 2017). Los carotenoides pueden ser considerados como derivados del licopeno ($C_{40}O_{56}$) por medio de reacciones que involucran hidrogenación, dehidrogenación, ciclación, inserción de oxígeno, doble migración de enlaces, migración de grupos metilo, elongación y acortamiento de cadena (Goodwin 1980).

Debido a esta estructura, los carotenoides pueden dar como resultado un gran número de isómeros geométricos con las configuraciones *cis* y *trans*. La gran mayoría de los carotenoides en la naturaleza se encuentran en la forma *all-trans*, solo se conocen unos pocos isómeros *cis* los cuales se encuentran en los tejidos vegetales, especialmente en algas, que se utilizan como fuente de carotenoides (Badui 2006).

El doble enlace *cis* ocasiona un impedimento estérico entre los átomos de hidrógeno y los grupos metilo más cercanos, es por ello que los isómeros *cis* son termodinámicamente menos estables que la forma *trans*. Cabe señalar que sólo los dobles enlaces en posición *trans* son biológicamente activos (Fennema 1995).

Los carotenoides en peces y crustáceos están asociados con proteínas (carotenoproteínas o lipoglucoproteínas). Los pigmentos unidos con proteínas son más estables que la forma libre; esta molécula combinada facilita la interacción con medios acuosos (Rodríguez-Amaya 1997).

Debido a su estructura altamente conjugada e insaturada, los carotenoides son susceptibles de sufrir oxidación (combinación con oxígeno) e isomerización (cambio en la geometría del doble enlace) durante el procesamiento de alimentos. Factores como la luz, la temperatura, la exposición a disolventes orgánicos y los tratamientos con ácidos promueven la isomerización de la forma *trans* a la *cis* (Fennema 1995).

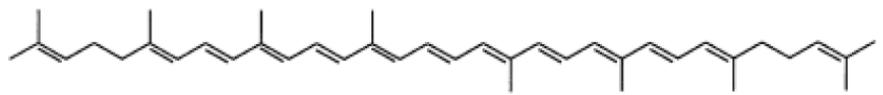
Sin embargo, la principal causa de degradación de carotenoides es la oxidación, que ocurre especialmente en los dobles enlaces y depende del oxígeno disponible. A medida que se saturan las dobles ligaduras y finalmente se rompen, el color característico de estos compuestos va desapareciendo (Mordi y col 1993).

La estabilidad de los pigmentos carotenoides a la oxidación depende del medio en el que se encuentran. Como consecuencia de la oxidación e isomerización, además de la pérdida de color, ocurre la disminución de sus funciones biológicas. Asimismo, la degradación de los carotenoides también se asocia con el desarrollo de sabores y olores desagradables (Rodríguez-Amaya 1997).

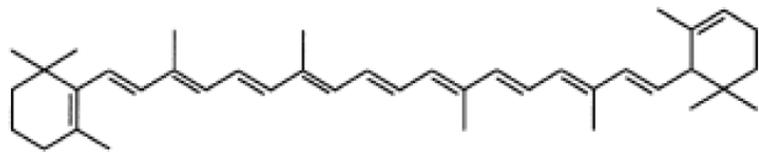
b. Clasificación

En base a su estructura química los carotenoides se pueden dividir en dos grandes grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos, están constituidos por carbono e hidrógeno; ejemplos de estos son licopeno, α y β -caroteno (**Figura 2**).

Licopeno



α -caroteno (C₄₀ H₅₆)



β -caroteno (C₄₀ H₅₆)

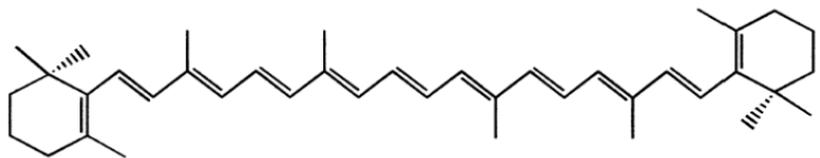


Figura 2. Estructura química de algunos carotenos. Fuente: Meléndez-Martínez y col 2004.

Las xantofilas son derivados oxigenados de los carotenos. Las funciones oxigenadas más comunes son los grupos hidroxilo (OH) en luteína y zeaxantina; ceto (C=O) en cantaxantina, o ambos (OH y C=O) en astaxantina (**Figura 3**). También se pueden encontrar los grupos aldehído (CHO), carboxi (COOH), metoxi (OMe) y epoxi (epóxidos 5,6 ó 5,8); ejemplos de estos compuestos son la fucoxantina, la luteína y la violaxantina (Calvo 1999).

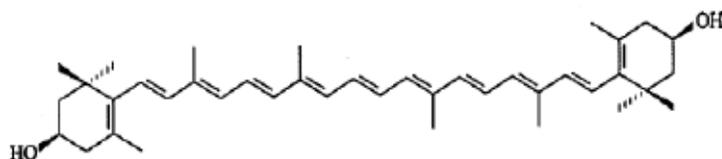
c. Distribución

Los carotenoides son el grupo de pigmentos más ampliamente distribuido; han sido identificados en organismos fotosintéticos y no fotosintéticos: en plantas superiores, algas, hongos, bacterias, y al menos en una especie de cada forma de vida animal. Los carotenoides son responsables de muchos de los colores brillantes rojo, naranja y amarillo de frutas, vegetales, hongos, flores, y también de aves, insectos, crustáceos y peces. Sólo los microorganismos y las plantas pueden sintetizar carotenoides del *novo*; los carotenoides en animales provienen de estas dos fuentes (microorganismos y plantas), aunque pueden modificarse durante su metabolismo para ser acumulados en los tejidos (Delgado-Vargas y col 2000).

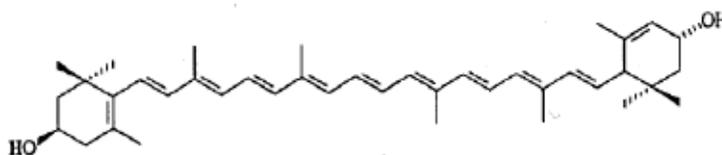
E. CAROTENOIDES Y SALUD HUMANA: POTENCIAL EFECTO ANTI-OBESIDAD Y ANTIOXIDANTE

La importancia de los carotenoides en los alimentos va más allá de su rol como pigmentos naturales; debido a sus características se les han atribuido funciones y acciones biológicas importantes (Delgado-Vargas y col 2000).

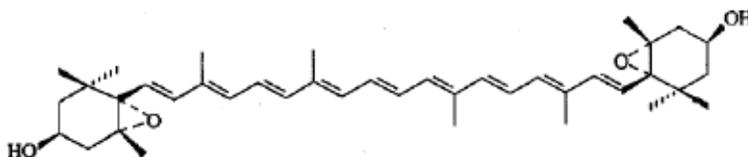
Zeaxantina (C₄₀H₅₆O₂)



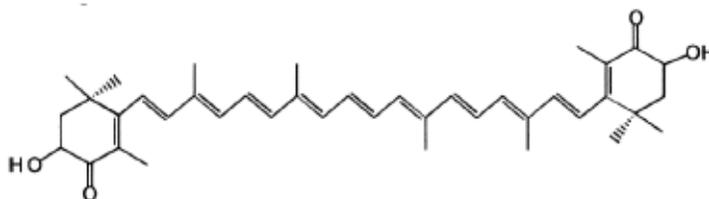
Luteína (C₄₀H₅₆O₂)



Violaxantina (C₄₀H₅₆O₄)



Astaxantina (C₄₀H₅₆O₄)



Capsantina (C₄₀H₅₆O₃)

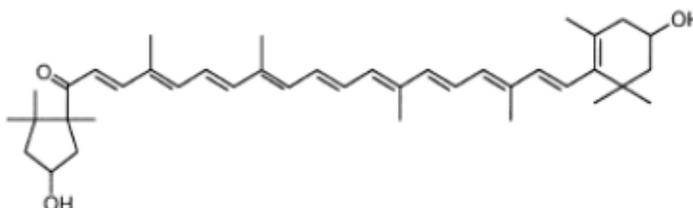


Figura 3. Estructura química de algunas xantofilas. Fuente: Meléndez-Martínez y col 2004.

Los carotenoides y productos de conversión de los carotenoides parecen tener un papel sustancial en el control de aspectos clave de la biología del tejido adiposo. Los resultados de estudios experimentales en animales apoyan una acción anti-obesidad y anti-inflamatoria de carotenoides y productos derivados. Es interesante destacar que algunos de estos compuestos, por ejemplo, fucoxantina, astaxantina, y los retinoides derivados del β -caroteno, ácido retinoico (ATRA) y retinaldehído, ejercen efectos supresores sobre la actividad PPAR γ y la adipogénesis y efectos estimuladores sobre la oxidación de lípidos y la termogénesis en adipocitos maduros y en otro tipo de células. Tales compuestos podrían, por tanto, ayudar a moderar la formación de nuevos adipocitos en condiciones obesogénicas y reducir el número de adipocitos en las personas obesas, favoreciendo al mismo tiempo la disipación del exceso de energía de la dieta (MeléndezMartínez 2017).

Los estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que el papel fotoprotector de los carotenoides está relacionado con su actividad antioxidante o con modulación de otros antioxidantes celulares. Además, se ha establecido que la estructura del carotenoide tiene una gran influencia en su actividad antioxidante; así, por ejemplo, la cantaxantina y la astaxantina muestran una mejor actividad antioxidante que β -caroteno o zeaxantina (Delgado-Vargas y col 2000).

1. Astaxantina

La astaxantina es el principal pigmento encontrado en animales acuáticos tales como salmón, trucha, camarón, langosta, etc. (Higuera-Ciapara y col 2006). Es un pigmento rojo liposoluble, el cual no tiene actividad de pro vitamina A en el cuerpo

humano, sin embargo, algunos estudios reportan que la astaxantina tiene mayor actividad biológica que otros carotenoides (Pashkow y col 2008).

La FDA ha aprobado el uso de astaxantina como colorante alimenticio en productos para la alimentación de peces y animales. Por esto, la astaxantina es utilizada principalmente en acuicultura para la pigmentación de salmónidos, debido a que proporciona el color rojo característico al músculo de salmón (Higuera-Ciapara y col 2006).

a. Estructura química y propiedades fisicoquímicas

Este oxicarotenoide (3,3'-dihydroxi, 4,4'-diona, β,β' -caroteno) pertenece al grupo de las xantofilas (**Figura 3**). Como otros carotenoides está formado por ocho unidades de isopreno. La fórmula de este carotenoide es $C_{40}H_{52}O_4$, con un peso molecular aproximado de 596.85 g/mol, se distingue por tener una cadena poliénica de once dobles enlaces conjugados proporcionando un intenso color rojo-naranja característico (Higuera-Ciapara y col 2006).

En forma pura se presenta como cristales de color rojo-violeta oscuro. Su punto de fusión es de 215°C, es insoluble en soluciones acuosas, pero soluble en diclorometano, cloroformo, acetona, dimetilsulfoxido y otros solventes polares (Martínez-Silva 2010; Franco-Zavaleta 2010).

La astaxantina comparte muchas de las funciones fisiológicas atribuidas a los carotenoides; sin embargo, la presencia de los grupos hidroxilo y ceto en cada anillo de β -ionona explica algunas de las características únicas de este compuesto, tales como una alta actividad antioxidante y una mayor polaridad que otros carotenoides. (Guerin y col 2003).

b. Función biológica

Se ha reportado que la astaxantina tiene hasta diez veces mayor capacidad antioxidante que el β -caroteno, la luteína y la zeaxantina (Miki 1991; Palozza y Kinsky 1992) y hasta 550 veces más que la vitamina E (Capelli 2007).

Por ello, las propiedades antioxidantes de la astaxantina han sido asociadas con la reducción de la incidencia de enfermedades neurodegenerativas, la prevención de procesos inflamatorios, el mejoramiento de la respuesta inmune, la reducción del nivel de triglicéridos en la sangre, la prevención de diversos tipos de cáncer, la protección contra la fotooxidación por rayos ultravioleta, la prevención de cataratas y de enfermedades cardiovasculares, entre otras (**Cuadro 3**) (Guerin y col 2003; Nageswara y col 2005).

c. Inestabilidad

La oxidación de astaxantina es debida principalmente a la presencia de oxígeno, el cual causa el rompimiento de los dobles enlaces de la cadena polienica y, en consecuencia, la pérdida de color. El producto obtenido de la oxidación es el astaceno; Meyers y Bligh (1981) encontraron que los carotenoides contenidos en crustáceos sometidos a un proceso de extracción a altas temperatura en presencia de oxígeno se oxidan a astaceno, el cual presenta características diferentes a la astaxantina. Otros factores también influyen en el proceso de oxidación como la luz, temperaturas superiores a los 40°C, y la presencia de ácidos y álcalis (Franco-Zavaleta 2010).

Cuadro 3. Estudios de la función biológica de la astaxantina en humanos

Estudio	Población	Efectos de la Astaxantina
Iwamoto y col 2000	24 voluntarios	Reducción de la oxidación de LDL.
Sawaki y col 2002	16 voluntarios sanos para estudio de ejercicio	Bajó significativamente la concentración en suero del ácido láctico en hombres adultos, después de correr 1200 m.
Comhaire y col 2005	20 hombres no fértiles con niveles de los valores de referencia del esperma por debajo de lo recomendado por la OMS.	Disminución de ROS. Secreción de inhibina β por células Sertoli.
Nagaki y col 2006	31 sujetos que sufren fatiga visual	Mejora la fatiga debida a la visualización de pantallas.
Karpi y col 2007	40 Hombres finlandeses sanos	Reducción de los niveles de plasma de ácidos grasos 12 y 15 hidroxí.
Kupcinkas y col 2008	44 pacientes con dispepsia	Gran reducción de los síntomas de reflujo en la semana 4 del estudio.
Uchiyama y Okada 2008	17 voluntarios sanos con riesgo de síndrome metabólico	Disminución significativa de Hb1Ac y TNF-alfa. Incremento significativo de adinopectina.
Park y col 2010	14 mujeres sanas	Disminución de la proteína C reactiva (PCR) después de 4 semanas.
Yoshida y col 2010	61 hombres y mujeres con hipertriglicemia	Disminución significativa de triglicéridos y aumento del colesterol HDL. Aumento significativo de la adinopectina
Choi y col 2011	23 hombres y mujeres con sobrepeso y obesidad	Descenso significativo de los biomarcadores de estrés oxidativo (MDA, ISOP, SOD y TAC).
Piermarocchi y col 2011	145 personas relacionadas con la degeneración macular	Estabilización o mejoría en la agudeza visual, sensibilización al contraste y función visual.

Fuente: López-Roldan y Mach 2012

d. Aplicaciones en alimentos

Las pocas aplicaciones que se tienen de astaxantina en alimentos, se deben principalmente a su naturaleza lipófila y a su alta inestabilidad, por lo que, el uso de alguna tecnología de microencapsulación representa una alternativa adecuada para reducir los problemas de incompatibilidad e inestabilidad de astaxantina en matrices alimentarias (Franco-Zavaleta 2010). En el **Cuadro 4** se resumen algunos estudios que se tienen de la aplicación de astaxantina en alimentos.

F. MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

La microencapsulación es una tecnología empleada para proteger compuestos bioactivos de la degradación u oxidación, reducir problemas de incompatibilidad y aumentar su biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal o puntos específicos del mismo (Martins y col 2014).

Dicha tecnología consiste en el recubrimiento del principio activo con una matriz polimérica inerte, para protegerlo de condiciones adversas como luz, temperatura, oxígeno y pH (Flores-Belmont y Jiménez-Munguía 2013; Martins y col 2014).

El resultado de la microencapsulación es la generación de micropartículas, con tamaño entre 1-1000 μm dependiendo del método de microencapsulación empleado, las cuales se espera sean funcionales y estables durante almacenamiento (Nava-Reyna y col 2015).

De acuerdo a la distribución del principio activo en la micropartícula, éstas pueden diferenciarse en microcápsulas y microesferas. Las microcápsulas son sistemas vesiculares en los que la sustancia de interés se localiza en el interior de la

Cuadro 4. Estudios sobre aplicaciones de astaxantina en alimentos

Aplicaciones	Referencia
Aplicación de nanodispersiones de astaxantina en leche descremada y jugo de naranja	<i>Anarjan y Tan 2013</i>
Aplicaciones de oleorresina de astaxantina en leche entera, semidescremada y descremada	<i>Cerezal-Mezquita y col 2013</i>
Dispersión de oleorresina de astaxantina en propilenglicol para utilizarse en un modelo de bebida instantánea	<i>Villalobos-Castillejos y col 2013</i>
Aplicación de oleorresina de astaxantina en yogurt tradicional y yogurt light para simular el color durazno y estudiar su estabilidad en refrigeración	<i>Cerezal-Mezquita y col 2014</i>
Utilización de portadores lipídicos nanoestructurados con astaxantina en cerveza sin alcohol	<i>Tamjidi y col 2017</i>

micropartícula, generalmente disuelta en un medio oleoso. Las microesferas, en cambio, son sistemas de tipo matricial donde la sustancia activa se suele encontrar encapsulada en el interior de la matriz. Una vez encapsulado, el compuesto activo puede liberarse de la matriz de forma controlada por solubilización, calentamiento, acción enzimática o pH (Nesterenko y col 2013; Martins y col 2014).

Existen diversas técnicas de microencapsulación, las cuales se dividen en químicas y mecánicas (**Figura 4**), obteniéndose así, productos con características específicas y aplicaciones diversas (Madene y col 2006; Flores-Belmont y Jiménez-Munguia 2013).

La selección del método de microencapsulación apropiado dependerá de la tecnología disponible, materiales de cubierta, del núcleo y del tamaño de partícula deseado (Ruiz-Canizales 2015). En el **Cuadro 5**, se pueden observar diversos sistemas de encapsulación y estabilización de astaxantina.

En la industria alimentaria y farmacéutica, el secado por aspersión figura entre las metodologías más aplicadas, debido a su bajo costo, continuidad de proceso y uso de materiales no tóxicos (Parra-Huertas 2010).

1. Secado por aspersión

Es la técnica más empleada en la industria alimentaria, nutracéutica y farmacéutica; es tan versátil que permite la encapsulación de microorganismos, compuestos hidrosolubles y lipofílicos (Parra-Huertas 2010). También, se emplea para reducir la actividad de agua de una sustancia con la finalidad de ampliar la estabilidad durante almacenamiento (García-Gutiérrez y col 2004).

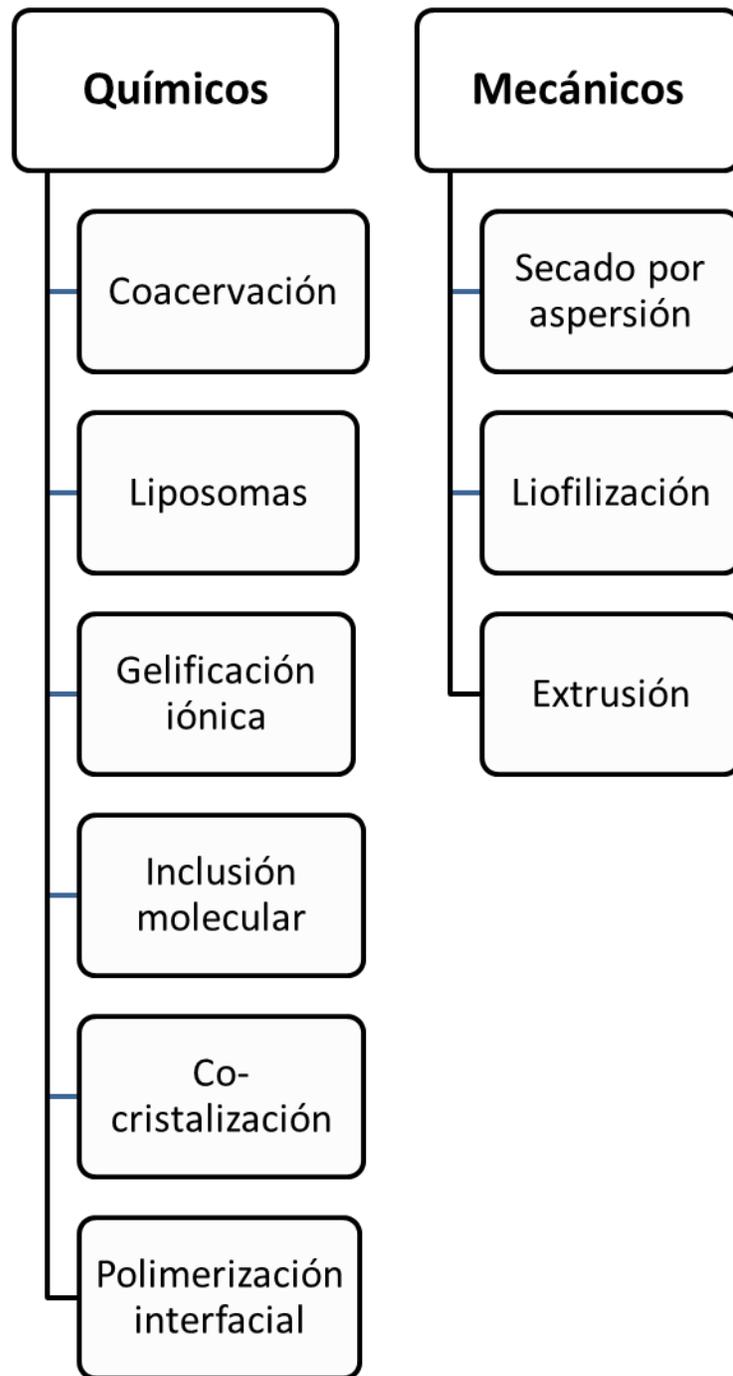


Figura 4. Clasificación de los métodos empleados en microencapsulación de compuestos bioactivos.

Cuadro 5. Sistemas utilizados para la estabilización de astaxantina

Sistema	Referencia
Microencapsulación utilizando matriz de quitosano y glutaraldehido, mediante emulsión múltiple	<i>Higuera-Ciapara y col 2004</i>
Encapsulación utilizando quitosano	<i>Kittikaiwan y col 2007</i>
Inclusión utilizando β -ciclodextrinas e iones calcio	<i>Chen y col 2007</i>
Incorporación en liposomas	<i>Matsushita y col 2008</i>
Inclusión utilizando β -ciclodextrinas	<i>Yuan y col 2008</i>
Nanoencapsulación utilizando PCPL y PB4	<i>Tachaprutinum y col 2009</i>
Gelación iónica utilizando alginato de sodio-calcio	<i>Lee y col 2011, Suganya y Asheeba 2015</i>
Microencapsulación mediante secado por aspersion utilizando proteína de suero y goma arábica como encapsulantes	<i>Bustos-Garza y col 2013</i>
Dispersiones de astaxantina en propilenglicol	<i>Villalobos-Castillejos y col 2013</i>
Microencapsulación de astaxantina con proteína de suero y fibra de maíz mediante secado por aspersion	<i>Shen y Quek 2014</i>
Coacervación con gelatina y goma cashew	<i>Gómez-Estaca y col 2016</i>
Microencapsulación con alginato de sodio mediante emulsión modificada	<i>Zhang y col 2017</i>
Microemulsiones utilizando behenato de glicerilo	<i>Tamjidi y col 2017</i>
Nanoemulsiones utilizando saponinas de ginseng	<i>Shua y col 2018</i>
Nanodispersiones utilizando proteína de suero	<i>Shen y col 2018</i>

Para el secado por aspersión primeramente se prepara la solución (suspensión ó emulsión) de alimentación (encapsulante más bioactivo), en donde la sustancia a encapsular es rodeada por la matriz protectora, posteriormente, la solución es alimentada al secador y atomizada por una boquilla (Fang y Bhandari 2010).

Finalmente, durante la atomización, la muestra entra en contacto con una corriente de aire caliente que genera la evaporación del agua presente en la muestra, obteniéndose un producto seco en forma de polvo o gránulos.

El tiempo de contacto entre la muestra atomizada y el aire caliente es muy corto y en consecuencia el daño debido al calor es mínimo. El secado por aspersión produce micropartículas con un tamaño entre 1-100 μm (Fang y Bhandari 2010; Parra-Huertas 2010).

Además, en comparación con otros métodos como la liofilización, el secado por aspersión proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta, llegando a alcanzar valores hasta del 96 y 100% (Parra-Huertas 2010).

a. Etapas del secado por aspersión

El secado por aspersión consiste en cuatro etapas: Atomización, contacto aire-gota, evaporación y recuperación del producto seco.

La atomización se logra al aplicar energía a la masa de líquido que va a ser procesado. La atomización es la operación más importante en el proceso de secado por aspersión (Masters 1979).

El tipo de atomizador determina la energía requerida para formar la nube, el tamaño y la distribución de tamaño de las partículas atomizadas, su trayectoria y

velocidad, siendo estos los factores de los que depende el tamaño final de la partícula seca (Filikova y col 2006).

Los aspersores/atomizadores utilizados son:

- ❖ Atomizadores rotatorios o centrífugos: originan una descarga de líquido a alta velocidad desde el eje de un disco rotatorio.
- ❖ Boquillas a presión: descargan líquido bajo presión a través de un orificio pequeño.
- ❖ Boquillas neumáticas: logran la aspersion por medio del uso de aire u otro gas a alta velocidad en contacto con la alimentación (Masters 1979).

En lo que se refiere al contacto aire-gota, existen 3 formas básicas de contacto que son: flujo paralelo, flujo a contracorriente y flujo mixto.

En el flujo paralelo, el asperjado y el aire caliente se introducen en la zona superior de la cámara y viajan en la misma dirección a través del secador, lo que favorece a los materiales termolábiles, ya que estos son protegidos de las altas temperaturas por el enfriamiento evaporativo (Masters 1979; Filikova y col 2006).

b. Agentes encapsulantes

Los materiales encapsulantes utilizados en la industria alimentaria son usualmente biomoléculas derivadas de plantas (goma arábica, maltodextrina, almidón), animales (quitosano, gelatina) o microorganismos (carragenina, alginato de sodio), etc. Las gomas y carbohidratos son los materiales de encapsulamiento más utilizados en comparación con las proteínas y lípidos (Madene y col 2006).

Una gran cantidad de sustancias de diferentes tipos y propiedades (**Cuadro 6**) pueden ser útiles para recubrir o encapsular. Para uso en alimentos estos materiales

Cuadro 6. Materiales de encapsulamiento

Tipos de encapsulantes	Encapsulante específico
Gomas	Arábica, agar, alginato de sodio, carragenina
Carbohidratos	Almidón, maltodextrinas, quitosano dextranos, sacarosa, jarabes de maíz
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, caboximetil-celulosa
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteárico, triestearina
Proteínas	Gluten, caseína, albúmina, WPI, gelatina
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos

Fuente: Desai y Park 2005.

deben formularse y escogerse dando cumplimiento a los requisitos de seguridad de las agencias gubernamentales como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) o la FDA de los EE.UU, lo que hace que encapsulantes que no son grado alimenticio, como las hidroxil β-ciclodextrinas, no son una opción viable a pesar de su buena capacidad de encapsulamiento (Shen y Quek 2014).

Otra limitante de los materiales encapsulantes empleados, es que deben ser altamente hidrosolubles, para mejorar la solubilidad de compuestos bioactivos lipídicos, además de que no deben interferir con la digestión y/o absorción de compuestos lipídicos, ejemplo de lo anterior es el quitosano, el cual es un encapsulante potencial, pero su consumo puede interferir con la biodisponibilidad de compuestos bioactivos de naturaleza lipídica (Mun y col 2007).

Cuando se usan polisacáridos como agentes encapsulantes, en el secado por aspersión, deben revisarse detalladamente sus propiedades funcionales. Por ejemplo, las maltodextrinas se usan en combinación con goma arábica para contribuir en la continuidad estructural durante la formación de la película encapsulante, al combinar 2 compuestos de muy diferente masa molecular (aproximadamente 1,8 y 1 700 kDa respectivamente), mejorando con ello la eficiencia de encapsulación de aceites.

Sin embargo, el grado de hidrólisis de las maltodextrinas también es un factor a considerar, ya que equivalentes de dextrosa muy bajos no tienen el efecto positivo mencionado (Pedroza y col 2002).

Se ha demostrado, que por la interacción existente entre la goma arábica y los lípidos se previene su oxidación, el mecanismo propuesto está relacionado con las propiedades de la goma arábica de adsorberse en la interfase aceite/agua formando

una película viscoelástica, donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotitas de aceite en los anclajes de las cadenas de la goma arábica (Pedroza y col 2002).

Estudios para evaluar la sustitución de la goma arábica por otros agentes encapsulantes, han demostrado que el uso de almidón de maíz como reemplazante total de la goma arábica produce un polvo con una eficiencia de encapsulación pobre (30 %). Sin embargo, cuando se combinan los materiales de la pared (50 % de glucosa y 50 % de goma arábica) se alcanza una eficiencia de encapsulación elevada (92 %). Además, se ha demostrado que la goma arábica puede ser reemplazada parcialmente por maltodextrina o almidones (ED 5.5 - 38) para encapsular materiales lipídicos, y que la elevación de la concentración de sólidos en la emulsión incrementa significativamente la eficiencia de encapsulación (McNamee 2001).

1) Goma arábica.

La goma arábica es un exudado de plantas (E-414, según la lista de aditivos de la Unión Europea), extraído de la resina de árboles subsaharianos (*Acacia senegal* y *Acacia seyal*) como parte del proceso de cicatrización conocido como gumosis. La goma arábica está formada por una mezcla muy compleja de polisacáridos y proteínas, que además varía dependiendo del origen de la goma. Los polisacáridos tienen como componentes principales galactosa, arabinosa (de aquí procede el nombre del monosacárido), ramnosa y ácido glucurónico, en orden decreciente de abundancia. También contiene proteínas, fundamentalmente glicoproteínas muy ricas en hidroxiprolina (Franco y col 2006).

La goma arábiga es fácilmente soluble, produciendo soluciones relativamente poco viscosas incluso a concentraciones elevadas (20%). Se utiliza como emulsificante, papel en el que son esenciales las proteínas, como estabilizante de suspensiones, especialmente en la industria de bebidas refrescantes, para formar películas protectoras, para encapsular pigmentos y aceites esenciales en productos concentrados y en polvo (Pedroza y col 2002; Franco y col 2006).

2) Maltodextrina

La maltodextrina es un biopolímero hidrosoluble que se obtiene de la hidrólisis del almidón (llevada a cabo por procesos químicos o bioquímicos); su estructura se conforma de cadenas lineales de D-glucosa unidas mediante enlace α -1,4. Este polímero presenta diversas propiedades deseables como la formación de películas, la reducción de la permeabilidad de oxígeno, su fácil producción a escala industrial, además de ser un material inocuo y de bajo costo. Asimismo, el uso de este polímero permite la generación de micropartículas esféricas con homogeneidad superficial (Sansone y col 2011).

De acuerdo con el grado de hidrólisis, a los derivados se les asignan un valor equivalente de dextrosa (ED). Cuanto mayor es el valor ED, más corta es la cadena de la glucosa y más alta es la dulzura y solubilidad (Murugesan y Orsat 2012).

c. Factores limitantes en el proceso de microencapsulación

Entre los factores más destacables que pueden afectar el proceso de microencapsulación mediante secado por aspersion se encuentran: la concentración

y tipo de agente encapsulante, pH del medio y las condiciones de operación, principalmente (Takenaka y col 1980).

1) Concentración y características del polímero

Cuando se utilizan gomas como agentes encapsulantes se ha observado que, dependiendo de la concentración de la goma y las características del polisacárido, se puede mejorar o por el contrario afectar la eficiencia de encapsulación (Sandoval-Peraza y col 2016).

Jyothi y col (2010) mencionan que cuando se utilizan polisacáridos para encapsular, la eficiencia de encapsulación dependerá de la concentración de dicho material. Por ejemplo, la eficiencia aumenta entre un 53.1-70.9% cuando la concentración del polímero aumenta de un 20-32.5%. El aumentar la concentración permitirá la precipitación rápida del polímero hacia la fase dispersa, lo que previene la pérdida del agente a encapsular, así mismo, se aumenta la viscosidad lo que permite que el principio activo permanezca dentro de las partículas formadas por el polímero.

2) Condiciones de operación

Estos factores son de los más importantes en la mayoría de las técnicas de microencapsulación, ya que éstas determinan la eficiencia, así como la degradación del principio activo microencapsulado. Parra-Huertas (2010) menciona que las condiciones de proceso de mayor importancia son la temperatura de entrada y salida del aire de secado, el flujo de alimentación del producto a encapsular, el tiempo de

residencia en la cámara de secado y el acondicionamiento previo de la materia prima antes del secado.

En el secado por aspersión, la temperatura de entrada es normalmente una de las variables que requiere mayor control debido al eventual termo-sensibilidad del encapsulado, pero no puede tener un valor muy bajo, ya que hace ineficiente el proceso de secado. La estrategia se basa en encontrar una temperatura adecuada, que combinada con otras variables de proceso, como la velocidad de entrada del flujo de alimentación, produzcan la mezcla adecuada de diámetro medio, tiempo y temperatura de secado de gota que permitan la obtención de microencapsulados con muy pocas grietas superficiales, con un adecuado nivel de bioactividad, que estén atrapados en un material de pared de humedad y actividad de agua bajas y que presenten una temperatura de transición vítrea superior a la temperatura de almacenamiento (Ramírez-Londoño 2013).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las bebidas son un producto de consumo masivo, conocidas mundialmente, con costo de producción bajo, de preparación fácil y tienen vida útil larga, por lo que pueden ser un excelente vehículo para la incorporación de nutrimentos o de compuestos bioactivos. Se ha establecido que la astaxantina es un potente antioxidante, el cual podría ser utilizado para su incorporación en bebidas. De acuerdo a la revisión de literatura, ha quedado establecido que la astaxantina puede proporcionar beneficios a la salud, por su potencial efecto antioxidante, antiinflamatorio y anti-obesidad, atributos de gran importancia debido a que las complicaciones derivadas del sobrepeso y obesidad son un problema de salud en México.

Existen pocos trabajos científicos sobre la utilización de astaxantina en la elaboración de productos alimenticios con características nutraceuticas, esto debido principalmente a su alta inestabilidad y su naturaleza lipófila, lo cual limita su utilización en matrices acuosas, haciendo necesaria la aplicación de alguna tecnología que facilite su uso en sistemas acuosos.

La microencapsulación utilizando goma arábica, maltodextrina y secado por aspersion, representan una alternativa tecnologica adecuada para proporcionar estabilidad y solubilidad a compuestos bioactivos liposolubles (como la astaxantina) en matrices alimentarias acuosas, como bebidas.

V. HIPÓTESIS

Microencapsulados de astaxantina con buena solubilidad/ estabilidad/ tiempo de dispersión en agua son obtenidos mediante el empleo de maltodextrina, goma arábica y secado por aspersion con rendimiento (R), concentración de astaxantina ([Ast]) y eficiencia de microencapsulación (EM) elevados. Asimismo, bebidas funcionales a base de proteína de amaranto y jugo de frutas, adicionadas con estos microencapsulados, presentan actividad antioxidante (AAox) alta y buena aceptabilidad sensorial.

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Optimizar el proceso de microencapsulación de astaxantina con maltodextrina y goma arábica mediante secado por aspersión para la obtención de microencapsulados con rendimiento (R) y concentración de astaxantina ([Ast]) altos, para emplearse en la formulación de bebidas funcionales, a base de proteína de amaranto y jugos de frutas, con potencial antioxidante alto.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener la mejor combinación de las variables del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión (% agente encapsulante, temperatura de aire de secado y flujo de alimentación) para la obtención de microencapsulados de astaxantina con R y [Ast] altos.
2. Validar las condiciones óptimas del secado por aspersión, con base en las variables de respuesta (R, [Ast]) estudiadas a los microencapsulados de astaxantina.
3. Evaluar propiedades fisicoquímicas (humedad, color, tiempo de dispersión, solubilidad, propiedades de flujo), eficiencia de microencapsulación (EM), actividad antioxidante (AAox), morfología y tamaño de partícula a los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

4. Desarrollar bebidas a base de proteína de amaranto y jugo de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

5. Evaluar composición química, contenido energético y propiedades fisicoquímicas a las bebidas a base de amaranto y jugos de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

6. Determinar la concentración de astaxantina y actividad antioxidante de las bebidas a base de amaranto y jugos de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

7. Evaluar sensorialmente las bebidas a base de amaranto y jugos de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. MATERIALES

1. Materias primas

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó oleorresina de astaxantina al 5% (AstaZine, BBG North America, Inc.), maltodextrina 10 ED (Globe, Ingredion México S. A. de C. V.), goma arábica (Instant Gum BB, Nexira S. A. de C. V.), semillas de amaranto (*A. hypochondriacus*), jugo de durazno y manzana 100% natural (Natura®, Valle Redondo S.A. de C. V.), pulpa de fresa (Zone Frut®, RG Internacional S. A. de C. V.), concentrado natural de limón (Noble®, Grupo R3 S. A. de C. V.), Stevia al 90% (PyureOrganic, Pyure Brand, LLC) Pectina LM (Unipectin, Cargill).

B. MÉTODOS

1. Obtención de condiciones óptimas del proceso de microencapsulación de astaxantina con maltodextrina y goma arábica mediante secado por aspersion

a. Diseño experimental

Para la optimización se aplicó la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR). Se utilizó un diseño experimental Box-Behnken con tres factores, los cuales fueron, el contenido de agente encapsulante, la temperatura de entrada del aire de secado y el flujo de alimentación al secador. En el **Cuadro 7**, se puede observar los niveles de cada uno de los factores utilizados; un valor de -1 fue asignado al nivel más bajo, de 0 al nivel medio y $+1$ al nivel más alto.

Cuadro 7. Factores (variables de proceso) y niveles utilizados para el Diseño Experimental Box-Behnken

Variable de proceso	Niveles codificados de las variables utilizadas		
	-1	0	1
AE (%)	10	15	20
TA (°C)	150	155	160
Flujo (mL/min)	6	7	8

AE = Agente encapsulante= mezcla Maltodextrina : Goma arábica (50:50, % p/p)

TA= Temperatura de entrada del aire de secado

Flujo= Flujo de alimentación al secador

Catorce combinaciones (incluyendo 2 réplicas del punto central) fueron seleccionadas en orden aleatorio (**Cuadro 8**) de acuerdo al programa Design Expert versión 7.0.0 (Design Expert, 2005; Stat-Ease, Minneapolis, MN, EUA). Las variables de respuesta que se maximizaron fueron el rendimiento del proceso de microencapsulación (R) y la concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]).

b. Preparación de las emulsiones de astaxantina.

El material de pared, que consistió en una mezcla de maltodextrina y goma arábica (50:50, % p/p), se disolvió en agua destilada. Una vez que se obtuvo una completa disolución de los agentes encapsulantes, se adicionó 0.5% de lecitina de soya. Las emulsiones se prepararon utilizando un homogenizador (Ultraturrax, Ika T25, EUA) a 13,000 rpm durante 2 minutos. La cantidad de fase oleosa (oleorresina de astaxantina y aceite de girasol, en proporción 55:45 p/p) usada en la emulsión fue del 2 % p/p con base en la cantidad de material de pared utilizado (Bustos-Garza y col 2013, Shen y Quek 2014).

c. Microencapsulación mediante secado por aspersion.

Las emulsiones se convirtieron en polvos utilizando un secador por aspersion (Yamato, ADL-311S, EUA) de acuerdo a las condiciones de proceso consideradas en el diseño experimental (**Cuadro 8**).

La presión de atomización (0.15 MPa) y el flujo de aire de secado (0.42 m³/min) se mantuvieron constantes para todas las corridas experimentales.

Cuadro 8. Diseño experimental utilizado para obtener diferentes combinaciones de agente encapsulante (AE), temperatura de entrada del aire de secado (TA) y flujo de alimentación (Flujo) para obtener microencapsulados de astaxantina mediante secado por aspersión, y variables de respuesta estudiadas

Tratamiento	No. Corrida (aleatoria)	Variables de proceso			Variables de respuesta	
		AE (%)	TA (°C)	Flujo (mL/min)	R (%)	[Ast] (µg Astaxantina / mg polvo)
1	12	10	150	7		
2	14	20	150	7		
3	5	10	160	7		
4	11	20	160	7		
5	4	10	155	6		
6	8	20	155	6		
7	9	10	155	8		
8	13	20	155	8		
9	3	15	150	6		
10	1	15	160	6		
11	6	15	150	8		
12	2	15	160	8		
13	10	15	155	7		
14	7	15	155	7		

Diseño experimental Box-Behnken con tres factores y tres niveles; 14 experimentos. AE = Agente encapsulante, TA= Temperatura de entrada del aire de secado, Flujo=Flujo de alimentación al secador, R= Rendimiento, [Ast]= Concentración de astaxantina. Las flechas verticales apuntando hacia arriba indican que el objetivo fue maximizar los valores de las variables de respuesta.

Los microencapsulados obtenidos se recolectaron una vez reducida la temperatura de salida a 40 °C, para posteriormente pesarse y almacenarse en bolsas de polipropileno, las cuales se colocaron en un desecador a una temperatura de 4°C para análisis posteriores (Bustos-Garza y col 2013, Ruiz-Canizales 2015).

d. Evaluación de las variables de respuesta a los microencapsulados

1) Rendimiento (R)

El rendimiento del proceso de microencapsulación se calculó mediante una técnica gravimétrica como la relación que existe entre la cantidad de sólidos alimentados en el secador (m_1) respecto a los sólidos recuperados a la salida del secador (m_2) (Krishnaiah y col 2012).

$$R (\%) = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

2) Concentración de astaxantina [Ast]

Cuatrocientos miligramos de microencapsulados se dispersaron en 30 mL de una solución buffer de fosfatos (pH 7). La astaxantina se extrajo adicionando 1 mL de metanol y 2.5 mL de acetato de etilo. La mezcla se agitó a 3000 rpm por 2 minutos y se centrifugó a 1010 x g durante 15 minutos, el sobrenadante conteniendo el acetato de etilo y la astaxantina, se colectó con pipeta Pasteur y se colocó en un frasco ámbar, el cual se almacenó a 4°C hasta su respectivo análisis (Bustos-Garza y col 2013).

Para determinar la concentración de astaxantina, se midió la absorbancia (472 nm) de 0.1 mL (m_0) de extracto de acetato de etilo previamente diluido con 20 mL (V)

de hexano. La absorbancia (A) y el coeficiente de extinción de la astaxantina ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 2100$) se utilizaron en el cálculo de la concentración mediante la siguiente fórmula (Corrêa y col., 2012):

$$[\text{Ast}] (\mu\text{g}/\text{mg polvo}) = \frac{V(\text{mL}) \cdot A}{E_{1\text{ cm}}^{1\%} \cdot \text{mo}(\text{mL})} \times 10$$

e. Análisis de regresión y varianza

Se aplicó regresión múltiple de mínimos cuadrados de la MSR para investigar la relación entre las variables independientes [AE (X1), TA (X2) y Flujo (X3)] y dependientes (R, [Ast]). El modelo empírico de la “caja negra” que se presenta en la **Figura 5** representa dicha relación entre variables de proceso y variables de respuesta. La expresión dentro de la “caja negra” representa R y [Ast] cuyo $k=1$ y 2 , respectivamente; β_{k0} , β_{ki} , β_{kii} y β_{kij} representan la constante y los coeficientes de los efectos lineal, cuadrático y de interacción, respectivamente. X_i , X_i^2 y X_iX_j representan el efecto lineal, cuadrático y de interacción de las variables independientes, respectivamente; y ε representa el error, primariamente considerado por la incapacidad para determinar el modelo verdadero. Para cada respuesta estudiada, se ajustó una ecuación polinómica de segundo grado utilizando una ecuación de regresión múltiple y los datos experimentales de R y [Ast] de los microencapsulados producidos (14 tipos de microencapsulados diferentes). En el análisis de regresión, los términos no-significativos ($p > 0.1$) se eliminaron del polinomio de segundo grado, se recalculó un nuevo polinomio y se obtuvo un modelo de predicción para cada variable de respuesta (Myers 1971). Los modelos de predicción obtenidos se utilizaron para representar gráficamente el sistema.

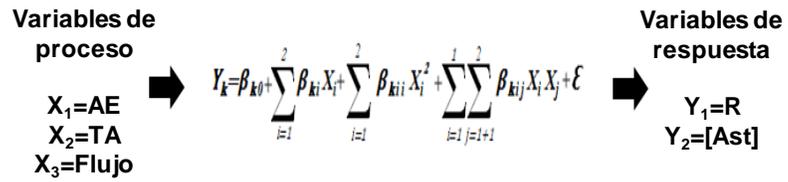


Figura 5. Modelo matemático de la “caja negra” que muestra la relación entre las variables de proceso de microencapsulación y de las variables de respuesta de los microencapsulados.

Se obtuvieron gráficos de superficie de respuesta para cada variable de respuesta donde se muestra el efecto de las variables de proceso sobre las variables de respuesta. El análisis de regresión y varianza y la obtención de los gráficos de superficies de respuesta se realizó utilizando el Software Design Expert versión 7.0.0 (Design Expert, 2005; Stat-Ease, Minneapolis, MN, EUA).

f. Optimización

Se utilizó el método numérico de Deseabilidad para encontrar los valores óptimos de AE, TA y flujo. Los criterios para la optimización de estas variables fueron los valores más altos de R y [Ast]. Se utilizó una ecuación de transformación para calcular los valores de deseabilidad individual para cada respuesta. La función de deseabilidad implicó la transformación de cada una de las variables de respuesta estimadas $\hat{Y}_i(x)$ a un valor deseable $d_i(x)$, en donde se obtuvieron deseabilidades individuales $[d_i(x)]$ para cada una de las variables de respuesta (R y [Ast]) y estas tomaron valores entre 0 y 1. La ecuación de transformación que se utilizó para calcular los valores de deseabilidad individual para cada respuesta fue:

$$d_i(x) = \begin{cases} 0 & \text{if } \hat{Y}_i(x) \leq Y_{i*} \\ \frac{\hat{Y}_i(x) - Y_{i*}}{Y_i^* - Y_{i*}} & \text{if } Y_{i*} \leq \hat{Y}_i(x) \leq Y_i^* \\ 1 & \text{if } \hat{Y}_i(x) \geq Y_i^* \end{cases}$$

Donde: $d_i(X)$ = Valor de la deseabilidad de la i-ésima variable de respuesta, $\hat{Y}_i(X)$ = Variable de respuesta estimada, Y_i^* = Máximo valor aceptable de la i-ésima

variable de respuesta, Y_{i^*} = Mínimo valor aceptable de la i -ésima variable de respuesta.

Si $d_i(x) = 1$, significa que la correspondiente respuesta estimada $\hat{Y}_i(x)$ alcanzó su máximo valor deseable; si $d_i(x) = 0$, la respuesta alcanzó un valor no deseado. Las deseabilidades individuales se combinaron usando la media geométrica para obtener la deseabilidad global $[D = (d_1 \times d_2)^{1/2}]$ (Bacio-Parra 2007).

La deseabilidad global fue una opción lógica, ya que si alguna $d_i(x) = 0$, la deseabilidad global sería $D = 0$, indicando que el producto microencapsulado es inaceptable. Una vez calculada la deseabilidad global, se obtuvieron los gráficos de deseabilidad y se determinaron las condiciones óptimas del proceso de microencapsulación.

Valores de deseabilidad global entre 0.6 y 0.8 son adecuados para sistemas alimenticios, siendo el valor ideal óptimo $D = 1$. Los cálculos de deseabilidades individuales (d_i) y la deseabilidad global (D) se llevaron a cabo utilizando el Programa Design Expert ver 7.0.0 (Design Expert, 2005; Stat-Ease, Minneapolis, MN, EUA).

g. Validación de las condiciones óptimas

Para validar las condiciones óptimas de microencapsulación, se obtuvieron 5 réplicas de los microencapsulados de astaxantina empleando las condiciones optimizadas (MAO); a estos microencapsulados se les evaluó experimentalmente por triplicado R y $[Ast]$, y los resultados se contrastaron con los valores arrojados por los modelos matemáticos de predicción para cada una de las variables de respuesta estudiadas. Adicionalmente, para validar las condiciones óptimas de microencapsulación se construyó un intervalo de confianza teórico para cada

respuesta a partir de la zona de optimización utilizando un nivel de confianza del 95%.

2. Caracterización de los Microencapsulados de Astaxantina Optimizados (MAO)

a. Humedad

El contenido de humedad en los microencapsulados optimizados se determinó de acuerdo a la AOAC (2012). Muestras por triplicado de los microencapsulados (1 g) se pesaron y secaron en un horno (Novatech, HS35-AID, México) a 100 °C por 24 h. Las muestras se sacaron del horno, se enfriaron en el desecador y se pesaron hasta obtener peso constante.

b. Color

Los atributos de color, luminosidad (L^*), a^* y b^* , se midieron a 2 g de microencapsulados utilizando un colorímetro (Konica Minolta, CR-300, Japón). Las muestras se analizaron por triplicado. Los valores del ángulo de matiz (h°) se calcularon mediante la siguiente fórmula $h^\circ = \arctan(b^* / a^*)$ (Ahmed y col 2010).

c. Tiempo de dispersión en agua

Un gramo de muestra de las microencapsulados se colocó en 40 g de agua destilada (35 °C). Se tomó como tiempo inicial el contacto del polvo con el agua y hasta que no hubo evidencia visual de partículas de polvo (Rodríguez-Huezo 2005). Las muestras se cronometraron por triplicado y se reportaron la media de ellas.

d. Solubilidad en agua

Doscientos miligramos de microencapsulados ($m_{inicial}$) se disolvieron en 10 mL de agua destilada por agitación en un vortex. A continuación, la mezcla se centrifugó a $760 \times g$ durante 10 min a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente, una alícuota de 9 mL se secó a $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. El peso de la muestra seca (m_{final}) se utilizó para el cálculo de la solubilidad (Montero y col 2016). El experimento se realizó por triplicado. La solubilidad se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$Solubilidad(\%) = \frac{m_{final} \times \left(\frac{10}{9}\right)}{m_{inicial}} \times 100$$

e. Eficiencia de microencapsulación (EM)

El contenido de aceite en la superficie de los microencapsulados se eliminó mediante una extracción con éter de petróleo según el método de Jafari y col. (2008) con algunas modificaciones (Shen y Quek 2014). A un gramo de los microencapsulados optimizados se les añadió 15 mL de disolvente, la suspensión se mezcló a temperatura ambiente durante 10 minutos. El polvo y el disolvente se separaron por filtración al vacío. Las partículas contenidas en el papel filtro (Whatman No.41) se lavaron con 5 mL adicionales de éter de petróleo. El papel filtro con los microencapsulados de astaxantina lavados, se dejó secar a temperatura ambiente hasta que alcanzó peso constante. Finalmente, se determinó por triplicado la concentración de astaxantina en los microencapsulados lavados ($[Ast]L$) y sin lavar ($[Ast]$). La EM se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$EM(\%) = \frac{\text{Contenido de astaxantina } \mathbf{dentro} \text{ de los microencapsulados } ([Ast]L)}{\text{Contenido } \mathbf{total} \text{ de astaxantina en los microencapsulados } ([Ast])} \times 100$$

f. Actividad antioxidante (AAox)

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método de ABTS, el cual se basa en la generación de un cromóforo del radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-ácido-6-sulfurónico) y la capacidad de un antioxidante para decolorarlo. Este ensayo se realizó según lo descrito por Bustos-Garza y col (2013). Se dejaron reaccionar durante 5 min, 30 µL de la muestra extraída con acetato de etilo con 2.97 mL de radical ABTS^{•+} previamente ajustado a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 (**Figura 6**). Posteriormente, la absorbancia de las muestras por duplicado se leyó a 734 nm en un espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Genesys 10, USA). Finalmente, los resultados se expresaron como µmoles equivalentes de Trolox /100 g y se determinaron a partir de una curva estándar de Trolox de concentración conocida.

g. Morfología y tamaño de partícula

La morfología de los microencapsulados de astaxantina optimizados se analizó en un microscopio electrónico de barrido (Carl Zeiss, EVO-50, Alemania). La muestra sin ningún tratamiento previo se montó sobre un porta muestras con ayuda de una cinta de carbono de doble cara adhesiva. La observación se realizó en condiciones de alto vacío, con un detector de electrones secundarios (SE1) y voltaje de aceleración de 15 kV. Las imágenes capturadas fueron analizadas usando el programa ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, EUA) para determinar el tamaño de los microencapsulados.

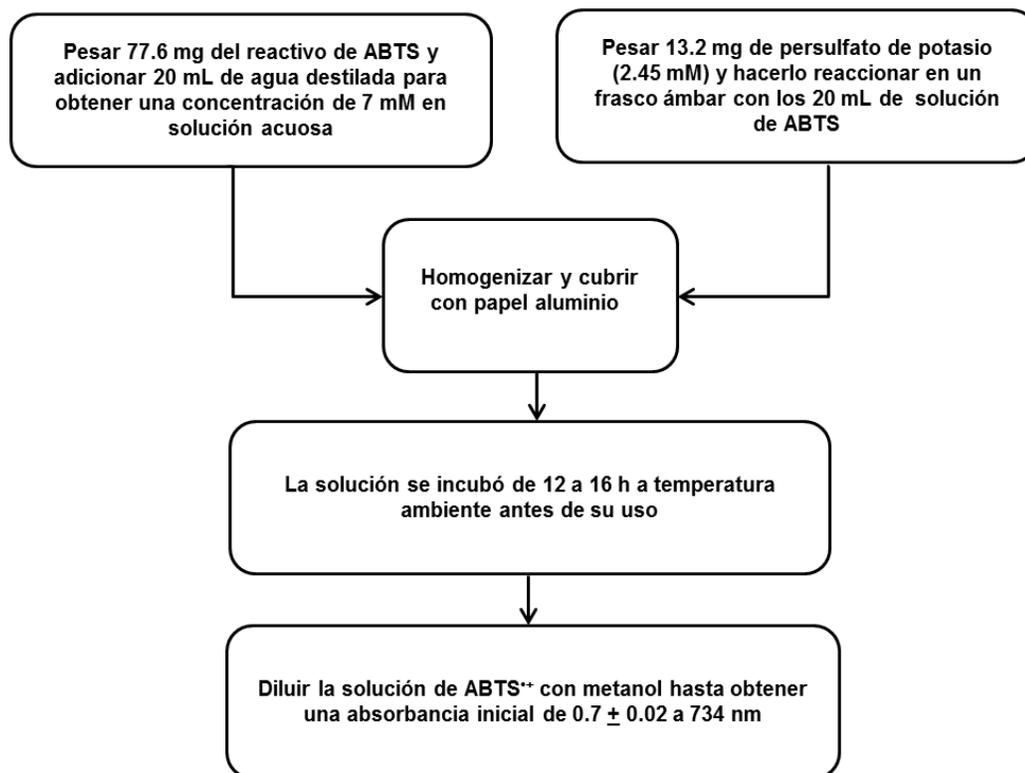


Figura 6. Diagrama del proceso de generación del radical catión $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Re y col 1999).

h. Propiedades de Flujo

1) Densidad aparente

La densidad aparente es la masa del polvo dividida entre el volumen aparente. Se determinó pesando y colocando 1 g de muestra en una probeta de 5 mL. La densidad se calculó con la siguiente ecuación:

$$\rho = m/v$$

Donde ρ es la densidad aparente, m es el peso de la muestra en gramos y v es el volumen de la muestra en mL (Shah y col 1997).

2) Densidad compactada

La densidad compactada es el volumen que ocupa la muestra después de compactarse. Se determinó colocando 1 g de muestra en una probeta de 5 mL y dejando caer continuamente la probeta desde una altura de 2 a 5 cm sobre una superficie dura y hasta que no hubo cambios en el volumen ocupado por la muestra. La densidad compactada se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\rho_c = m/v_c$$

Donde ρ_c es la densidad de la muestra compactada, m es la masa de la muestra en gramos y v_c es el volumen de la muestra compactada en mL (Shah y col 1997).

3) Índice de Hausner

El índice de Hausner sirve para determinar la cohesividad que presentan los polvos. Se calculó con la siguiente ecuación:

$$IH = \rho_c / \rho$$

Donde IH es el índice de Hausner, ρ_c es la densidad compactada y ρ es la densidad aparente (Islam y col 2017).

4) Compresibilidad

La compresibilidad también conocida como índice de Carr sirve para determinar la fluidez de los polvos. Se calculó con la siguiente ecuación:

$$IC = 100 - 100/IH$$

Donde IC es el índice de compresibilidad e IH es el índice de Hausner (Islam y col 2017).

5) Densidad de Partícula

La densidad de partícula es la masa de la partícula dividida entre el volumen que ocupa, excluyendo los poros de las partículas y se determinó pesando 1.5 g de muestra y colocándola en un matraz aforado de 10 mL, el matraz se aforó con tolueno y se midió el volumen de tolueno utilizado para así calcular la densidad de partícula con la siguiente ecuación:

$$\rho_P = \frac{g}{(v_f - v_i)}$$

Donde ρ_P es la densidad de partícula, g es la cantidad de muestra en gramos, v_f el volumen del matraz utilizado y v_i es el volumen de tolueno utilizado en mL (Islam y col 2017).

6) Porosidad

La porosidad fue calculada con la densidad de partícula y la densidad compactada como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \frac{\rho_P - \rho_c}{\rho_P} \times 100$$

Donde ε es la porosidad, ρ_P es la densidad de partícula y ρ_c es la densidad compactada (Islam y col 2017).

3. Desarrollo y caracterización de bebidas a base de proteína de amaranto y jugo de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

a. Obtención de bebidas adicionadas con MAO

Se desarrollaron tres modelos de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados, uno a base de jugo de limón y pulpa de fresa (tipo limonada) y dos a base de amaranto y jugo de frutas. Para la formulación de las bebidas de amaranto, una se elaboró a base de concentrado de proteína de amaranto obtenido por extracción alcalina y precipitación ácida (**Figura 7**), mientras que la otra se elaboró con leche de amaranto obtenida por extracción acuosa (**Figura 8**). Dependiendo de la formulación, se utilizaron mezclas de estevia, pectina y ácido cítrico como edulcorante, estabilizante y acidulante respectivamente.

b. Pasteurización de las bebidas adicionadas con MAO

Una vez que se tuvieron formuladas las bebidas, éstas se calentaron a 80 °C durante 30 minutos con agitación constante; después de transcurrido el tiempo de

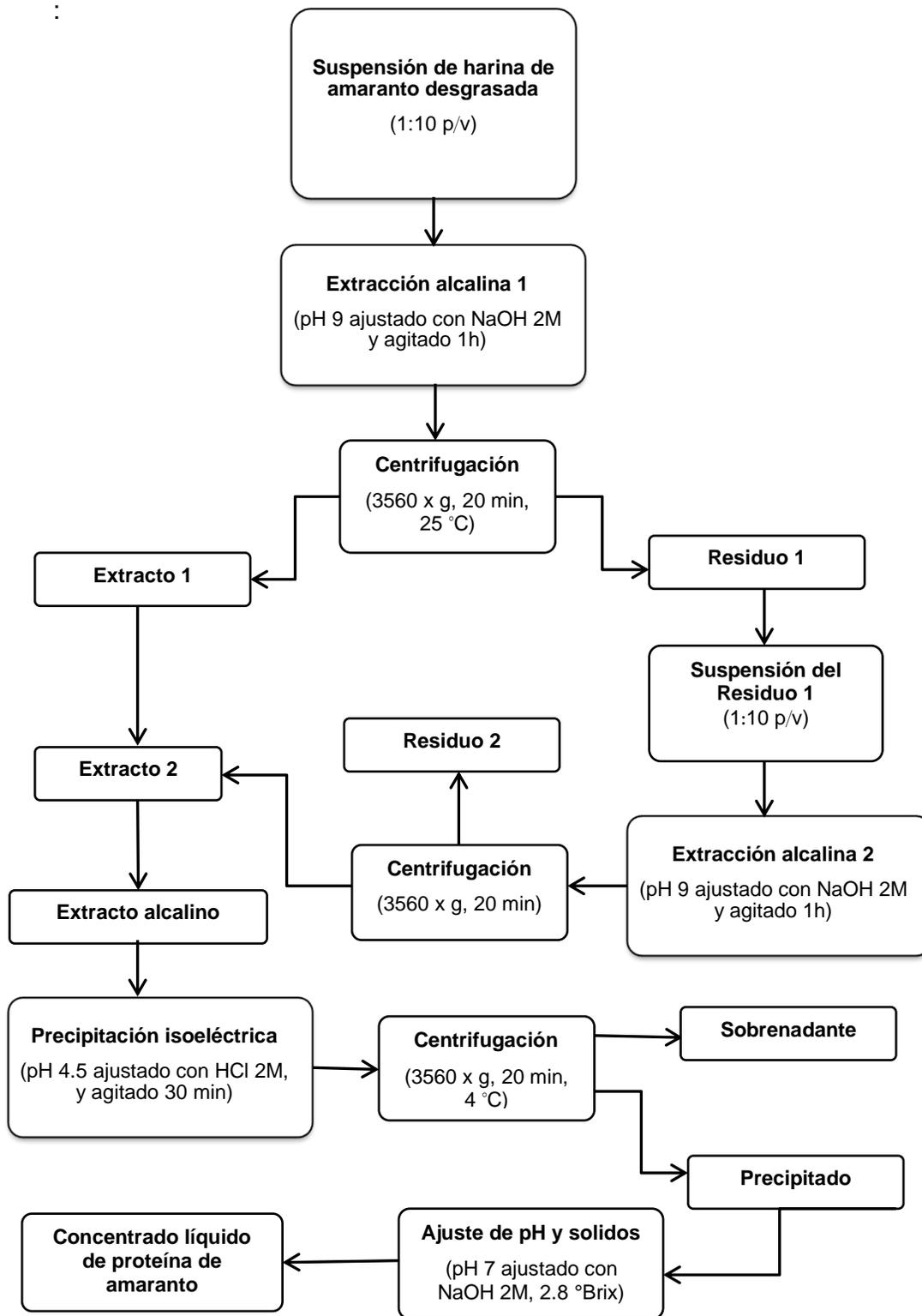


Figura 7. Diagrama del proceso de obtención del concentrado de proteína de amaranto (Castel 2010; Polanco-Murrieta 2017).

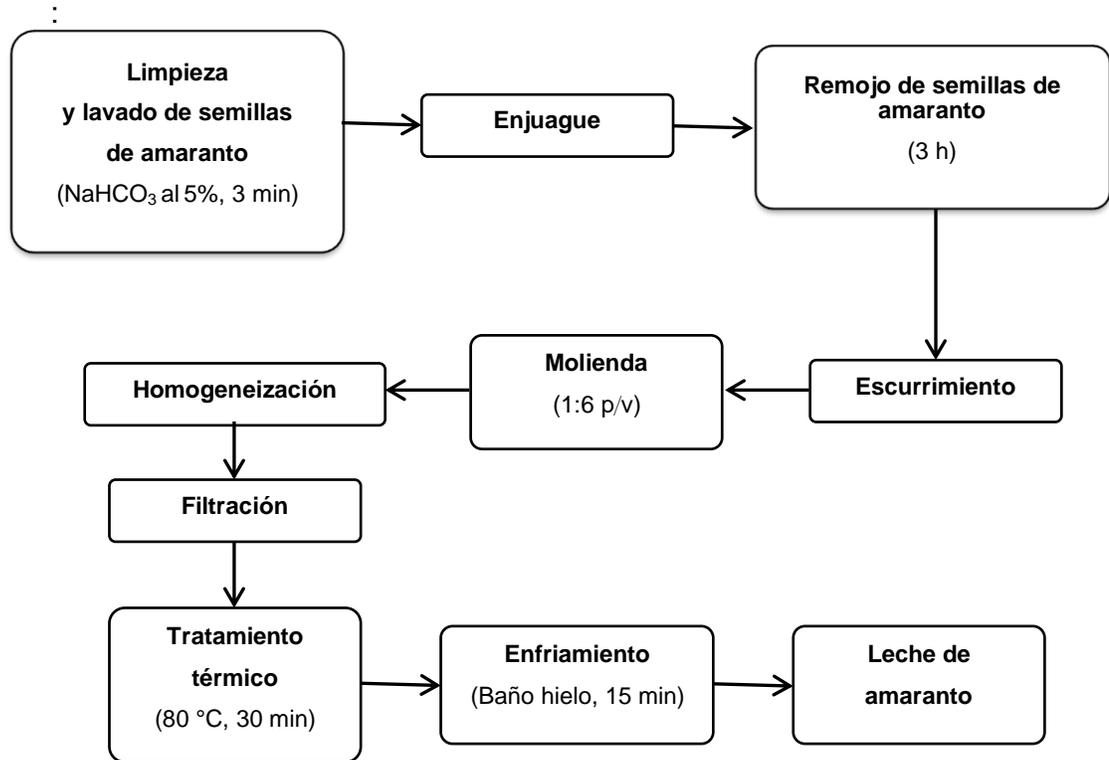


Figura 8. Diagrama del proceso de obtención de la leche de amaranto (Carpio-Escobar 2009; Soteras 2011).

pasteurización, se cesó el calentamiento y se adicionaron los microencapsulados de astaxantina optimizados. Inmediatamente después de que los microencapsulados se disolvieron completamente, las bebidas se envasaron en caliente y los envases sellados se colocaron en un baño de agua fría durante 20 minutos (**Figuras 9 y 10**).

c. Caracterización de las bebidas adicionadas con MAO

1) Proteína

El porcentaje de proteína se determinó indirectamente por la cuantificación de nitrógeno a través del método oficial de la AOAC (2012), utilizando como factor de conversión 6.25. El método consistió en colocar 5 mL de la bebida en un tubo kjeldahl, la muestra se dejó secar durante 6 h, posteriormente se le agregó 1.625 g de mezcla catalizadora (6.25 % de sulfato de cobre con 93.75 % de sulfato de potasio) y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. El tubo kjeldahl se colocó en el digestor y se calentó gradualmente, hasta que el contenido del tubo presentó un color verde claro y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente el contenido del tubo kjeldahl se traspasó a un tubo para destilación, adicionando 10 mL de agua destilada para disolver los residuos que quedaron en el tubo Kjeldahl; enseguida se añadieron 50 mL de hidróxido de sodio al 40%. Por otro lado en un matraz Erlenmeyer se adicionaron 50 mL de ácido bórico al 4% y 3 gotas de indicador Wesslow (0.8 g de rojo de metilo + 0.2 g de azul de metileno disueltos en 500 mL de alcohol etílico), para recibir el destilado de la muestra.

Finalmente, la muestra se tituló con HCl 0.01 N. El porcentaje de proteína se calculó empleando la siguiente ecuación:

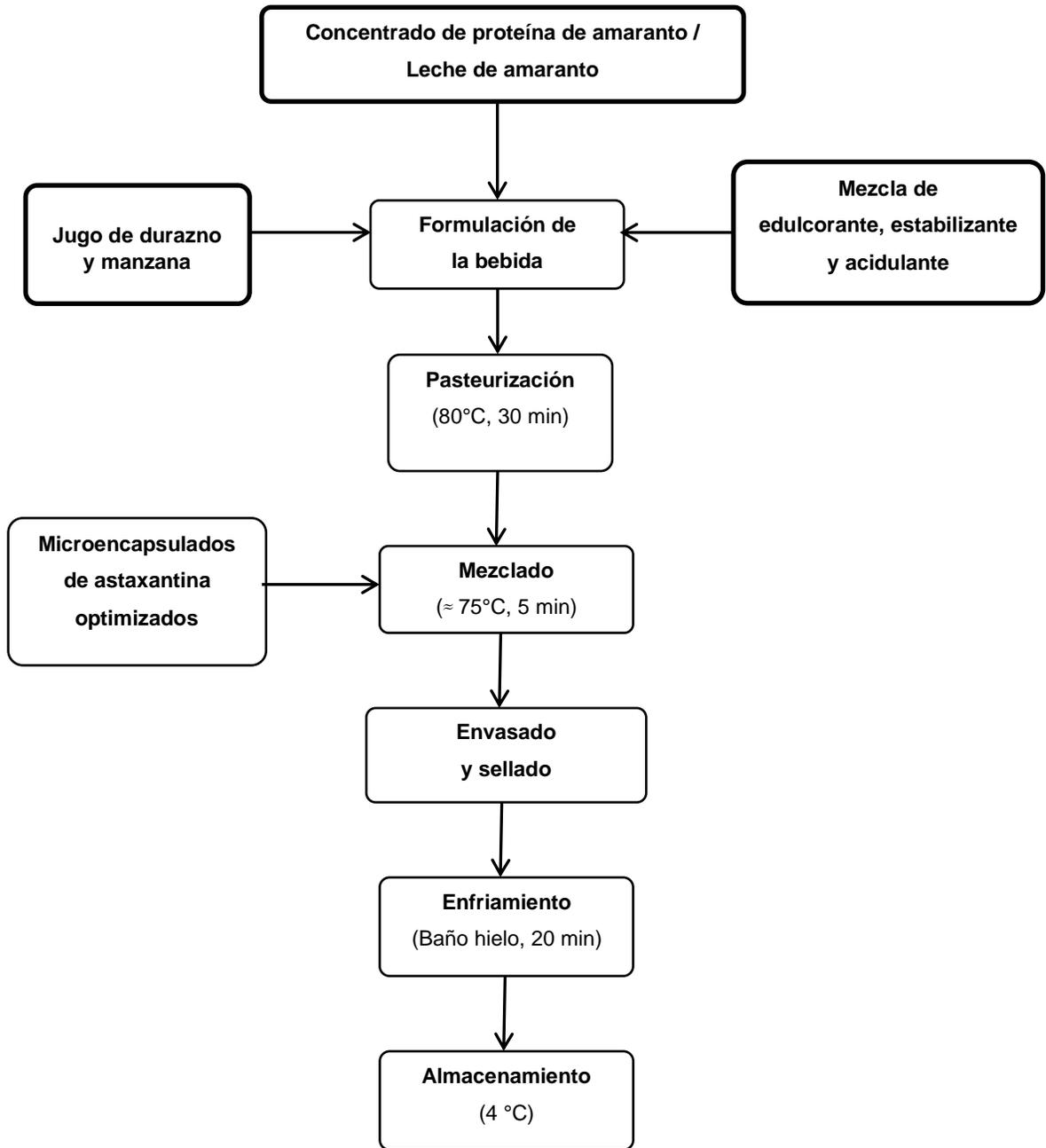


Figura 9. Diagrama del proceso de obtención de las bebidas a base de amaranto.

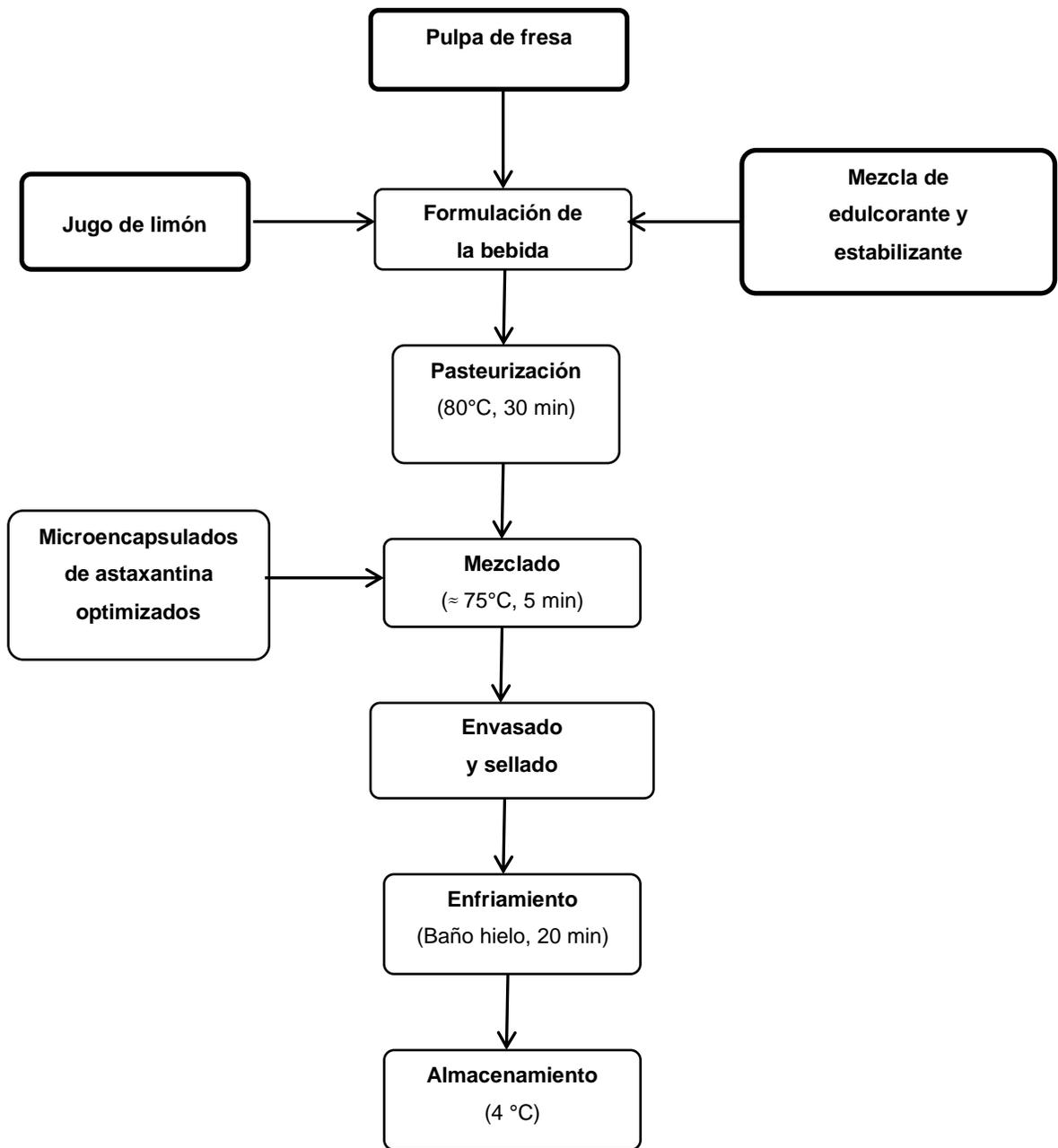


Figura 10. Diagrama del proceso de obtención de la bebida tipo limonada.

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\text{mL gastados de HCl} \times \text{Normalidad del HCl} \times \text{meq} \times \text{FC}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Donde *meq* son los miliequivalentes de nitrógeno (0.014) y *FC* es el factor de conversión para obtener la proteína a partir del nitrógeno total (6.25).

La determinación de proteína para cada una de las bebidas se realizó por triplicado.

2) Lípidos (Método de Mojonnier)

El método es adecuado para determinar el porcentaje de grasa cruda en muestras líquidas; se fundamenta en extraer la fracción lipídica de la muestra, al solubilizarla en el solvente orgánico no polar. Para lo cual, primeramente, se lavaron muy bien las capsulas de evaporación y se secaron en estufa hasta obtener peso constante. Se determinó la densidad de la bebida en un matraz aforado de 10 mL (previamente pesado en balanza analítica), para lo cual se añadieron 10 mL de la bebida, se pesó nuevamente, y por diferencia, se obtuvo el peso de los 10 mL de bebida. Posteriormente se tomaron 10 mL de la bebida y se transfirieron a un frasco mojonnier, se le añadió 1.25 mL de NH₄OH concentrado, 3 gotas de fenolftaleína y se mezclaron. Se agregaron 10 mL de etanol al 95 %, se tapó el frasco y se agitó cuidadosamente, se le añadieron 25 mL de éter etílico y se agitó cuidadosamente durante 1 minuto; enseguida se le añadieron 25 mL de éter de petróleo y se volvió a agitar durante 1 minuto. El frasco se dejó en reposo durante 15 minutos en posición vertical para poder separar la fase etérea. Se decantó con cuidado la capa etérea a la capsula previamente tarada. Se repitió dos veces más el procedimiento de extracción de la grasa a la misma muestra de la bebida, tal y como se describió,

añadiendo sucesivamente: 5 mL de etanol, 15 mL de hexano y 15 mL de éter de petróleo y en la tercera extracción se eliminó el etanol. Se decantó cada vez la capa etérea a la cápsula que contenía el producto de la primera extracción. Se evaporó el solvente y la cápsula se llevó a peso constante. Finalmente, con los datos obtenidos del peso de la muestra y el peso de la grasa extraída, se reportó el resultado como porcentaje de grasa cruda (Nielsen 2010).

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{\text{Peso final de la cápsula} - \text{Peso inicial de la capsula}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

3) Cenizas

El porcentaje de cenizas se determinó de acuerdo al método de la AOAC (2012). Se pesaron 10 mL de muestra en un crisol de porcelana (puesto previamente a peso constante), la muestra se carbonizó sobre la flama de un mechero, posteriormente, se introdujo en una mufla a 550 °C por 5 horas, se dejó enfriar gradualmente y se colocó en un desecador para enfriar. Finalmente, se pesó y se calculó el porcentaje de cenizas:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del residuo}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

4) Fibra dietaria total (FDT) por método gravimétrico no enzimático

Este método es aplicable en alimentos y productos alimenticios con 10% de fibra dietaria total y productos que contengan 2% de almidón, en base seca. La determinación se realizó mediante la precipitación de la fibra por la adición de etanol de acuerdo a la metodología descrita por Ramírez-López (2008). A 10 mL de la

bebida se le añadió 40 mL de etanol al 78%, la suspensión se mezcló a temperatura ambiente durante 2 minutos. El precipitado y el disolvente se separaron por filtración al vacío. Las partículas contenidas en el embudo de filtración se lavaron con 10 mL adicionales de etanol al 78%. Se repitió dos veces más el procedimiento de lavado a la misma muestra filtrada, añadiendo 10 mL de etanol al 95% en el segundo lavado y 10 mL de acetona para el lavado final. El embudo de filtración con el residuo total filtrado y lavado, se colocó en una estufa (Novatech, HS35-AIA, México) a 105°C durante una noche, posteriormente se enfrió en un desecador y el residuo seco (R) se pesó. Un duplicado se analizó para proteína y otro se incinero a 550 °C para determinar cenizas. El porcentaje de fibra se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Fibra} = \left[\frac{R-A-B}{P_m} \right] \times 100$$

Donde R es el peso del residuo seco, A es el peso de proteína (g proteína/10 mL bebida), B es el peso de ceniza (g ceniza/10 mL bebida) y P_m es el peso promedio de las muestras tomadas (Garcia-Cruz y Retana-Tobias 2007).

5) Carbohidratos disponibles

El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia empleando la siguiente ecuación (Ramírez-López 2008; Carrillo-Martínez 2017):

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - \left(\begin{array}{l} \text{Humedad} + \text{Proteína} + \text{Lípidos} + \text{Cenizas} + \text{Fibra} \\ + \text{Dextrinas} + \text{Ac. orgánicos} + \text{Gomas} + \text{Edulcorante} \end{array} \right)$$

6) Contenido energético

El contenido energético se calculó de manera teórica en base a lo reportado por la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Para el cálculo correspondiente, se consideró el

aporte calórico de cada uno de los componentes de la bebida, para ello, los resultados de la composición química (por porción) se multiplicaron por su correspondiente factor calórico. El contenido energético consideró la suma del aporte energético de todos los componentes presentes en una porción (200 mL) de bebida.

7) pH

El pH se determinó a una muestra de 100 mL de cada una de las bebidas, utilizando un potenciómetro (Thermo Scientific, Orion 3-Star, EUA) previamente calibrado (Gamboa-Gómez 2014).

8) Sólidos solubles

Los sólidos solubles (expresados en °Brix) se midieron usando un refractómetro de mesa (Hanna, HI96801, EUA). Las mediciones se realizaron a 25 °C colocando en el prisma del refractómetro una gota de la bebida y limpiando con agua destilada después de cada análisis.

9) Viscosidad

La viscosidad se determinó a una muestra de 250 mL de cada una de las bebidas (a 4°C), usando un viscosímetro rotacional (Brookfield, RVT, EUA). Las mediciones se realizaron utilizando la aguja No. 1, después de 1 min a 50 rpm y los resultados se expresaron en cP (mPa.s) (Cerezal-Mezquita y col 2012).

10) Sólidos totales

La concentración de sólidos totales de cada una de las bebidas se determinó pesando 10 mL de las muestras correspondientes en capsulas de porcelana limpias y secas y manteniéndolos en estufa a 105 ° C durante 24 h (Soteras 2011).

11) Concentración de astaxantina [Ast]

La extracción de la astaxantina se realizó según el método de Villalobos-Castillejos y col (2013) con algunas modificaciones. A 9 mL de la bebida se le adicionaron 1.5 g de NaCl. La astaxantina se extrajo adicionando 1 mL de metanol y 2 mL de acetato de etilo. La mezcla se agitó a 3000 rpm por 2 minutos y se centrifugó a 1010 x g durante 15 minutos, el sobrenadante conteniendo el acetato de etilo y la astaxantina, se colectó con pipeta Pasteur y se colocó en un frasco ámbar, el cual se almacenó a 4°C hasta su respectivo análisis (Bustos-Garza y col 2013). Para determinar la concentración de astaxantina, se midió la absorbancia (472 nm) de 0.1 mL (*mo*) de extracto de acetato de etilo previamente diluido con 5 mL (*V*) de hexano. La absorbancia (*A*) y el coeficiente de extinción de la astaxantina ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 2100$) se utilizaron en el cálculo de la concentración mediante la fórmula siguiente (Corrêa y col 2012):

$$[\text{Ast}] \text{ (mg/200 mL bebida)} = \frac{V(\text{mL}) \cdot A}{E_{1\text{ cm}}^{1\%} \cdot mo(\text{mL})} \times 2000$$

12) Actividad antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó mediante el método de ABTS, el cual se basa en la generación de un cromóforo del radical ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-ácido-6-sulfurónico) y la capacidad de un antioxidante

para decolorarlo. Este ensayo se realizó según lo descrito por Bustos-Garza y col (2013). Se dejarán reaccionar durante 5 min, 30 μ L de la bebida con 2.97 mL de radical ABTS^{•+} previamente ajustado a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 . La mezcla se agitó a 1000 rpm durante 30 s y se filtró. Posteriormente, la absorbancia de las muestras filtradas se leyó a 734 nm en un espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Genesys 10, USA). Finalmente, los resultados se expresaron como μ moles ET/ 200 mL y se determinaron a partir de una curva estándar de Trolox de concentración conocida.

13) Análisis sensorial

Esta prueba permitió a los panelistas manifestar su grado de aceptación por el producto. Las bebidas se evaluaron con 50 jueces no entrenados, los cuales plasmaron sus resultados en una planilla de evaluación para cada bebida, donde los atributos a evaluar fueron apariencia, sabor, consistencia y aceptabilidad global, haciendo uso de una escala LAM (labeled affective magnitud), la cual es una escala bidireccional de 100 mm con una descripción verbal con rangos que van desde -100 (máximo valor de disgusto imaginable) hasta +100 (máximo gusto imaginable), en donde cero (ni me gusta, ni me disgusta) es el punto central. Posteriormente estos valores fueron transformados a una escala de 0 a 100 [0=máximo valor de disgusto imaginable; 100= máximo gusto imaginable, donde 50=ni me gusta, ni me disgusta] (Cardello y Schutz 2004). Esta transformación se realizó para poder analizar cada una de las respuestas de aceptabilidad de las bebidas.

4. Análisis estadístico

Los resultados de las propiedades evaluadas a las microcápsulas y las bebidas (caracterización) se encuentran expresados como el promedio \pm desviación estándar; todos los análisis se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis de varianza unifactorial, seguido de comparación de medias con la prueba de rangos múltiples de Duncan ($\alpha=0.05$). El análisis estadístico se realizó en el programa Statgraphics Centurion XVI.I.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. CONDICIONES ÓPTIMAS DEL PROCESO DE MICROENCAPSULACIÓN DE ASTAXANTINA CON MALTODEXTRINA Y GOMA ARÁBIGA MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN

1. Valores experimentales de R y [Ast] de los microencapsulados de astaxantina

Los resultados de rendimiento (R) y concentración de astaxantina ([Ast]) medidos a los microencapsulados de cada uno de los 14 tratamientos se muestran en el **Cuadro 9**. Los resultados del rendimiento del proceso de microencapsulación estuvieron en un rango de 11.8 a 55.6 %, mientras que los resultados de la concentración de astaxantina en los microencapsulados oscilaron entre 8.98 y 11.14 $\mu\text{g Ast/mg}$ de polvo. Las variables de respuesta obtenidas de los 14 experimentos se analizaron por regresión múltiple para determinar los modelos matemáticos polinomiales de segundo orden con mejores resultados. La adecuación y fiabilidad de los modelos de regresión se probaron mediante el análisis de varianza (ANOVA).

2. Análisis de metodología de superficie de respuesta (MSR)

a. Modelos de regresión de las variables de respuesta

Un buen modelo de regresión estimado debe explicar adecuadamente la variación de la variable dependiente en la muestra. Existen pruebas de hipótesis sobre los parámetros del modelo que ayudan a medir la efectividad del modelo. Un buen modelo predictivo debe tener un nivel de significancia con $p \leq 0.05$, un coeficiente de determinación ajustado (R^2) ≥ 0.80 , prueba de falta de ajuste no significativa ($p > 0.05$) y valores de coeficientes de varianza (CV) $\leq 10\%$.

Cuadro 9. Resultados experimentales de rendimiento y concentración de astaxantina evaluados en microencapsulados de astaxantina obtenidos mediante secado por aspersión con diferentes condiciones de procesamiento

Tratamiento	No. Corrida (aleatoria)	Variables de proceso			Variables de respuesta	
		AE (%)	TA (°C)	Flujo (mL/min)	R (%)	[Ast] (µg Astaxantina / mg polvo)
1	12	10	150	7	13.617	9.71
2	14	20	150	7	34.185	10.33
3	5	10	160	7	17.432	9.9
4	11	20	160	7	41.427	10.95
5	4	10	155	6	11.845	9.33
6	8	20	155	6	55.665	11.14
7	9	10	155	8	11.824	10
8	13	20	155	8	53.998	11.14
9	3	15	150	6	14.580	9.14
10	1	15	160	6	27.148	8.95
11	6	15	150	8	30.242	9.52
12	2	15	160	8	22.253	9.38
13	10	15	155	7	33.201	9.57
14	7	15	155	7	48.511	9.79

AE.=Agente encapsulante, TA.= Temperatura de entrada del aire de secado, Flujo=Flujo de alimentación al secador, R= Rendimiento, [Ast]= Concentración de astaxantina.

Del mismo modo, también se requiere que el error experimental (ϵ_i) se distribuya normal e independientemente, con media cero y varianza (s^2) constante.

Se aplicó un análisis de varianza para examinar la importancia de los términos de los modelos cuadráticos obtenidos por regresión a partir de los datos experimentales de rendimiento de microencapsulación y concentración de astaxantina de los microencapsulados.

Los resultados de ANOVA y del análisis de regresión para los modelos cuadráticos del rendimiento (R) del proceso de microencapsulación y de la concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]), se presentan en los **Cuadros 10 y 11**, respectivamente. Los valores $p \leq 0.0001$ obtenidos para R y [Ast] indicaron que los modelos fueron estadísticamente significativos. Los p-valores ≤ 0.1 de los términos lineales, de interacción y cuadráticos de los modelos de regresión indican que son significativos, es decir influyen en el rendimiento del proceso de microencapsulación y la concentración de astaxantina en los microencapsulados, mientras que los valores superiores a 0.1 indican que los términos del modelo no son significativos para dichas respuestas.

Los términos que tuvieron efectos significativos en R fueron el % de agente encapsulante (AE = X_1) ($p < 0.0001$), la interacción entre temperatura de entrada del aire de secado (TA = X_2) y flujo de alimentación (Flujo = X_3) ($p = 0.0363$) y los términos cuadráticos de TA (X_2^2) ($p = 0.007$) y Flujo (X_3^2) ($p = 0.0149$). Mientras que, los términos significativos para [Ast] fueron el % de agente encapsulante (AE = X_1) ($p = 0.0002$), el flujo de alimentación (Flujo = X_3) ($p = 0.0799$) y los términos cuadráticos de AE (X_1^2) ($p = 0.0002$) y TA (X_2^2) ($p = 0.0850$).

Cuadro 10. ANOVA y análisis de regresión para la variable de respuesta rendimiento (R) del proceso de microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersión

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor F	p-valor
Modelo	3255.45	4	813.86	63.75	<0.0001
AE	2947.47	1	2947.47	230.88	<0.0001
TA*Flujo	77.06	1	77.06	6.04	0.0363
TA ²	153.80	1	153.80	12.05	0.0070
Flujo ²	115.05	1	115.05	9.01	0.0149
Residual	114.90	9	12.77		
F de ajuste	100.8	8	12.60	0.89	0.6790
Error puro	14.10	1	14.10		
Total	3370.35	13			
<i>Desv. Est.</i>	3.57		<i>R²</i>	0.9659	
<i>Media</i>	30.85		<i>R² ajustada</i>	0.9508	
<i>C.V. %</i>	11.58		<i>R² de la predicción</i>	0.9195	
<i>PRESS</i>	271.46		<i>Precisión adecuada</i>	18.408	

AE.= Agente encapsulante, TA.= Temperatura de entrada del aire de secado, Flujo=Flujo de alimentación al secador, F de ajuste= Falta de ajuste, Desv. Est. = Desviación estándar, PRESS = suma de cuadrados del error de predicción (PRESS, del inglés Prediction Error Sum of Squares), R² = Coeficiente de determinación, C.V.= Coeficiente de variación.

Cuadro 11. ANOVA y análisis de regresión para la variable de respuesta concentración de astaxantina en microencapsulados obtenidos mediante secado por aspersión

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor F	p-valor
Modelo	6.11	4	1.53	21.73	0.0001
AE	2.67	1	2.67	37.95	0.0002
Flujo	0.27	1	0.27	3.89	0.0799
AE ²	2.55	1	2.55	36.22	0.0002
TA ²	0.26	1	0.26	3.74	0.0850
Residual	0.63	9	0.070		
F de ajuste	0.61	8	0.076	3.14	0.4118
Error puro	0.024	1	0.024		
Total	6.75	13			
<i>Desv. Est.</i>	0.27		<i>R²</i>	0.9062	
<i>Media</i>	9.92		<i>R² ajustada</i>	0.8645	
<i>C.V. %</i>	2.67		<i>R² de la predicción</i>	0.7579	
<i>PRESS</i>	1.63		<i>Precisión adecuada</i>	13.268	

AE.=Agente encapsulante, TA.= Temperatura de entrada del aire de secado, Flujo=Flujo de alimentación al secador, F de ajuste= Falta de ajuste, Desv. Est. = Desviación estándar, PRESS = suma de cuadrados del error de predicción (PRESS, del inglés Prediction Error Sum of Squares), R² = Coeficiente de determinación, C.V.= Coeficiente de variación.

Los modelos de regresión con variables codificadas obtenidos para predecir el rendimiento del proceso de microencapsulación (R) y la concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]) fueron:

$$R = +38.09 + 19.19* X_1 - 4.39* X_2* X_3 - 6.79* X_2^2 - 5.87* X_3^2$$

$$[Ast]= +9.58 + 0.58* X_1 + 0.19* X_3 + 0.87* X_1^2 - 0.28* X_2^2$$

Con respecto a los parámetros estadísticos utilizados para decidir la satisfacción del modelado de las respuestas rendimiento de microencapsulación (R) y concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]), se puede observar que éstos fueron adecuados. Los valores de R^2 ajustado fueron superiores a 0.80, mientras que los modelos de regresión explicaron el 96.59 % y 90.62 % de la variabilidad total en las respuestas R y [Ast], respectivamente, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Se observó que la dispersión relativa de los puntos experimentales de las predicciones de los modelos (CV) fue $< 10\%$, y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0.05$). Asimismo, se graficó la probabilidad normal de residuales (gráficos no mostrados) para las variables de respuesta R y [Ast] para verificar el supuesto de normalidad de los datos. Los gráficos de residuos mostraron que éstos se distribuyeron aproximadamente a lo largo de una línea recta, lo que significa que el supuesto de normalidad fue satisfecho por las respuestas analizadas. Ya que los errores y las observaciones y_i (resultados experimentales) de las respuestas estudiadas están relacionadas mediante la ecuación $e_i = y_i - \hat{Y}_i$ [la diferencia entre los valores observados (y_i) y los correspondientes valores predichos por los modelos experimentales (\hat{Y}_i) corresponden a los términos de error (e_i)] se puede concluir que estas observaciones y_i también se distribuyeron de manera

normal e independiente, al igual que los respectivos errores, lo cual fue mencionado anteriormente.

Además de las gráficas de residuos, existen otros diagnósticos de los modelos que con frecuencia son útiles en regresión. La suma de cuadrados del error de predicción (PRESS, del inglés Prediction Error Sum of Squares) proporciona una útil escalación de los residuales. Este estadístico que se muestra en los **Cuadros 10 y 11** fue empleado para calcular una R^2 de predicción, la cual ofrece cierto indicio de la capacidad predictiva del modelo de regresión. Se puede ver que las R^2 de predicción para R y [Ast] fueron de 0.9195 y 0.7579, respectivamente. Por lo tanto, podría esperarse que estos modelos de predicción “expliquen” cerca del 92 % y 76 % de la variabilidad al predecir nuevas observaciones de R y [Ast], respectivamente, en comparación con el aproximadamente 97 % y 91 % de la variabilidad en los datos originales que explicó el ajuste de mínimos cuadrados de R y [Ast], respectivamente. Además, los valores de R^2 de predicción están en acuerdo razonable con los valores de R^2 ajustada de estas respuestas (0.9508 y 0.8645 para R y [Ast], respectivamente). Es por ello que, la capacidad predictiva global de los modelos basado en este criterio fue muy satisfactoria. Otro estadístico importante es la *precisión adecuada* del modelo, la cual mide la relación señal/ruido. Es deseable una relación mayor que 4. La relación señal/ruido para los modelos de R y [Ast] fueron 18.408 y 13.268, respectivamente, lo que indicó una señal adecuada.

Por todo lo anteriormente mencionado, se puede concluir que los modelos de regresión obtenidos para las respuestas rendimiento de microencapsulación (R) y concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]) fueron adecuados y

reproducibles, y que pueden utilizarse para navegar en el espacio experimental del diseño.

b. Gráficos de superficies de respuesta

Los gráficos de superficies de respuesta obtenidos con los modelos matemáticos de predicción para R y [Ast] mediante el Software Design Expert 7.0.0 se muestran en las **Figuras 11 y 12**, respectivamente.

En la **Figura 11**, se observa la superficie de respuesta para el rendimiento del proceso de microencapsulación de astaxantina (R) en función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y de la temperatura de entrada del aire de secado (TA) a tres diferentes flujos de alimentación (6, 7 y 8 mL/min).

En dichos gráficos, se puede observar que los valores más bajos de R, se encuentran en las zonas de color azul, mientras que los valores más altos se encuentran en las zonas de color rojo. En este trabajo de investigación los valores deseados de R fueron los más altos, y estos se encuentran en la zona en donde se tienen los porcentajes más altos de AE y valores intermedios de Flujo y TA.

Al analizar la **Figura 11**, se puede ver que R aumentó en forma cuadrática con TA y el Flujo hasta alcanzar valores máximos a valores intermedios de estos factores, y posteriormente la respuesta disminuyó en valores más altos de TA y Flujo.

El signo negativo de los coeficientes de los términos cuadráticos de TA y el Flujo en el modelo de predicción para R indicó que esta respuesta presentó un punto estacionario tipo “máximo” a valores intermedios de TA y Flujo. Este comportamiento podría ser explicado por los cambios en el contenido de humedad en los microencapsulados, lo cual se asocia con TA, debido a que la TA es directamente

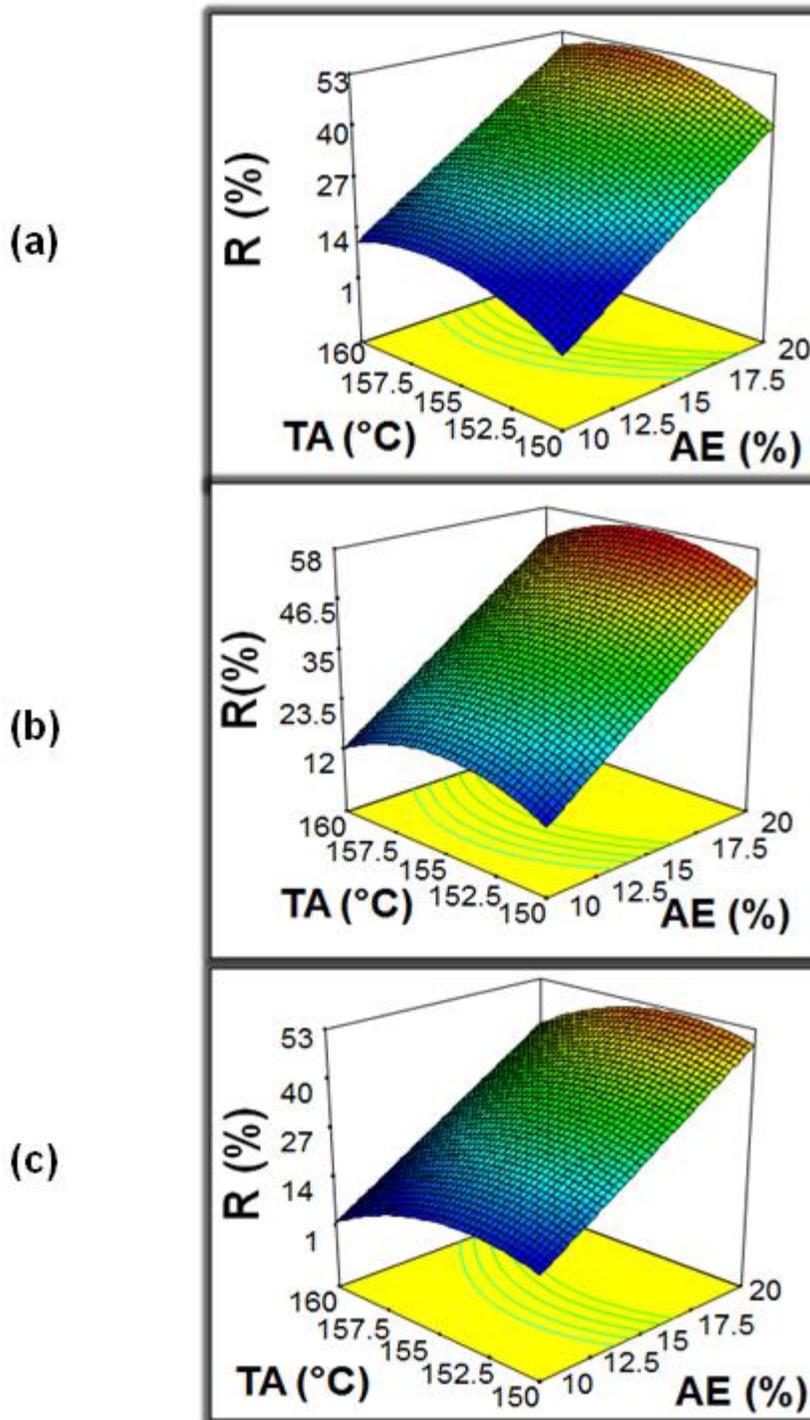


Figura 11. Gráficos de superficie de respuesta para el rendimiento de microencapsulación (R) como función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y la temperatura de entrada de aire (TA) a tres diferentes flujos de alimentación: (a) 6 mL/min; (b) 7 mL/min; (c) 8 mL/min.

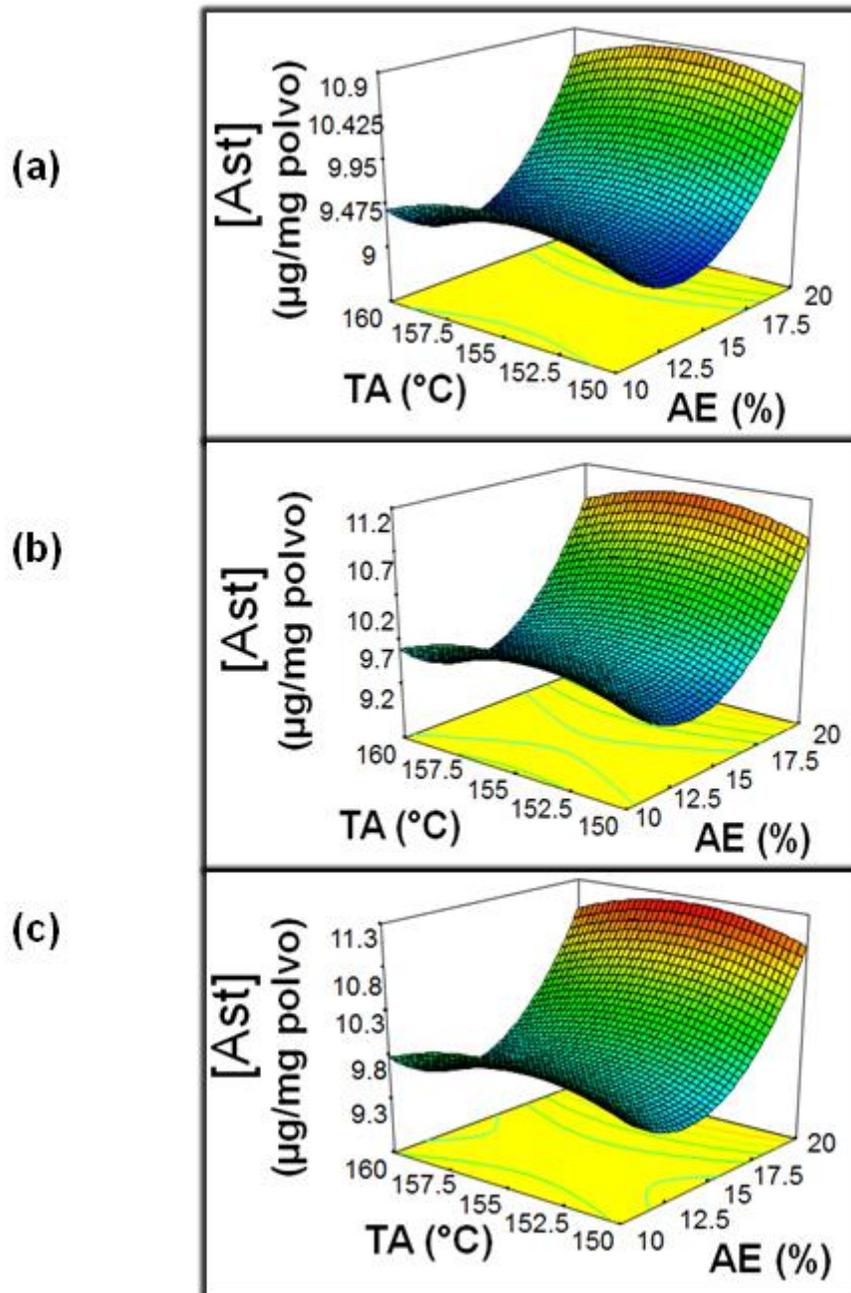


Figura 12. Gráficos de superficie de respuesta para la concentración de astaxantina ([Ast]) como función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y la temperatura de entrada de aire (TA) a tres diferentes flujos de alimentación: (a) 6 mL/min; (b) 7 mL/min; (c) 8 mL/min.

proporcional a la velocidad de secado de los microencapsulados y por ende al contenido final de humedad en ellos (Esquivel-González y col 2015). Una TA baja provoca una baja velocidad de evaporación, lo que se traduce en la obtención de microencapsulados con alta densidad y alto contenido de humedad. La recuperación del producto seco (que se utiliza para el cálculo del rendimiento) se realiza a través de un ciclón colocado en la parte exterior de la cámara de secado, por lo que si TA es baja, se obtienen partículas más húmedas que se quedan adheridas a la cámara de secado disminuyendo así los valores de producto recuperado en el ciclón y por ende del rendimiento (R), mientras que si TA es alta las partículas secas obtenidas pasan al ciclón en donde las partículas menos densas (partículas secas finas) se pierden hacia la atmosfera, disminuyéndose con ello el R del proceso (Gharsallaoui y col 2007). Por otro lado, R aumentó en forma lineal continua con AE. Debido a que un alto contenido de AE, trae consigo un incremento de la viscosidad en la emulsión de alimentación (Anandharamakrish y Padma 2015). A una misma presión de atomización, un incremento de la viscosidad del líquido de alimentación inicial, incrementa el tamaño de partículas obtenidas (Gharsallaoui y col 2007), lo que se puede traducir en una menor cantidad de partículas finas (que se pierden en el ciclón) aumentando con ello los valores de R. El AE tuvo mayor efecto sobre la respuesta R que los factores TA y Flujo.

En la **Figura 12**, se presentan los gráficos de superficie de respuesta para la concentración de astaxantina en los microencapsulados ([Ast]) en función del porcentaje de agente encapsulante (AE) y de la temperatura de entrada del aire de secado (TA) a tres diferentes flujos de alimentación (6, 7 y 8 mL/min).

En los gráficos de superficie de respuesta para la [Ast], se puede observar que los valores más bajos de [Ast], se encuentran en las zonas de color azul, mientras que los valores más altos se encuentran en las zonas de color rojo. En esta investigación los valores deseados de [Ast] fueron los más altos, y estos se encuentran en la zona en donde se tienen los valores más altos de AE y Flujo, y valores intermedios de TA.

En el caso de la respuesta [Ast], se obtuvo un comportamiento de silla de montar (**Figura 12**), y el punto estacionario se ubicó a valores bajos de AE y valores intermedios de TA; el signo positivo del coeficiente del término cuadrático de AE y el signo negativo del coeficiente del término cuadrático de TA en el modelo de predicción para [Ast] indicó que esta respuesta presentó un punto estacionario tipo “silla”. En la **Figura 12**, se puede observar que a partir del punto estacionario la superficie se curva hacia arriba en la dirección de AE ([Ast] aumenta en ambos sentidos con AE a partir del punto silla) y hacia abajo en la dirección de TA ([Ast] disminuye en ambos sentidos con TA a partir del punto silla). Este comportamiento de [Ast] con TA podría ser explicado por los cambios en el contenido de humedad en los microencapsulados, lo cual se asocia con TA debido a que TA es directamente proporcional a la velocidad de secado de los microencapsulados y por ende al contenido final de humedad en ellos. Una TA baja provoca una baja velocidad de evaporación, lo que se traduce en la obtención de microencapsulados con alta densidad y alto contenido de humedad (Esquivel-González y col 2015). Cuando se determina la [Ast] en microencapsulados con un mayor contenido de humedad (μg de Ast/ mg polvo “húmedo”), este valor resulta ser menor que la [Ast] en microencapsulados con menor contenido de humedad (μg de Ast/ mg polvo “seco”).

Sin embargo una TA alta provoca una evaporación excesiva que a su vez resulta en el rompimiento de la “capa” protectora formada por los agentes encapsulantes (Esquivel-González y col 2015), induciendo así a una subsecuente liberación prematura de la astaxantina la cual puede ser degradada al entrar en contacto con el oxígeno y de esta forma disminuir la [Ast] en los microencapsulados.

Por otro lado, [Ast] aumentó en forma lineal continua con el Flujo. AE fue el factor que tuvo mayor efecto sobre la respuesta [Ast]. Anandharamakrish y Padma (2015) mencionan que el alto contenido de sólidos totales, en términos de sólidos de pared es muy beneficioso, esto es debido a que, en el secado por aspersion, los sólidos de pared (AE) contribuyen a la formación de la barrera protectora del núcleo. Por lo que el aumento del AE (sólidos presentes en la emulsión de alimentación al secador) permite aumentar la “capa” protectora, disminuyendo así la permeabilidad a los gases (Masters 1979). Por lo que el aumento de AE, trae consigo el aumento de la protección y retención de la astaxantina en los microencapsulados, lo cual se ve reflejado en [Ast] más altas.

c. Optimización del proceso de microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersion

Una vez que se tuvieron los modelos de predicción ajustados para cada una de las variables de respuesta estudiadas (R y [Ast]), se utilizó el método numérico de deseabilidad para encontrar las condiciones óptimas (AE, TA y Flujo óptimos) del proceso de encapsulación de astaxantina mediante secado por aspersion.

La **Figura 13** muestra la deseabilidad global (**D**) como una función de las variables del proceso de encapsulación AE y TA. **D** se obtuvo como el promedio

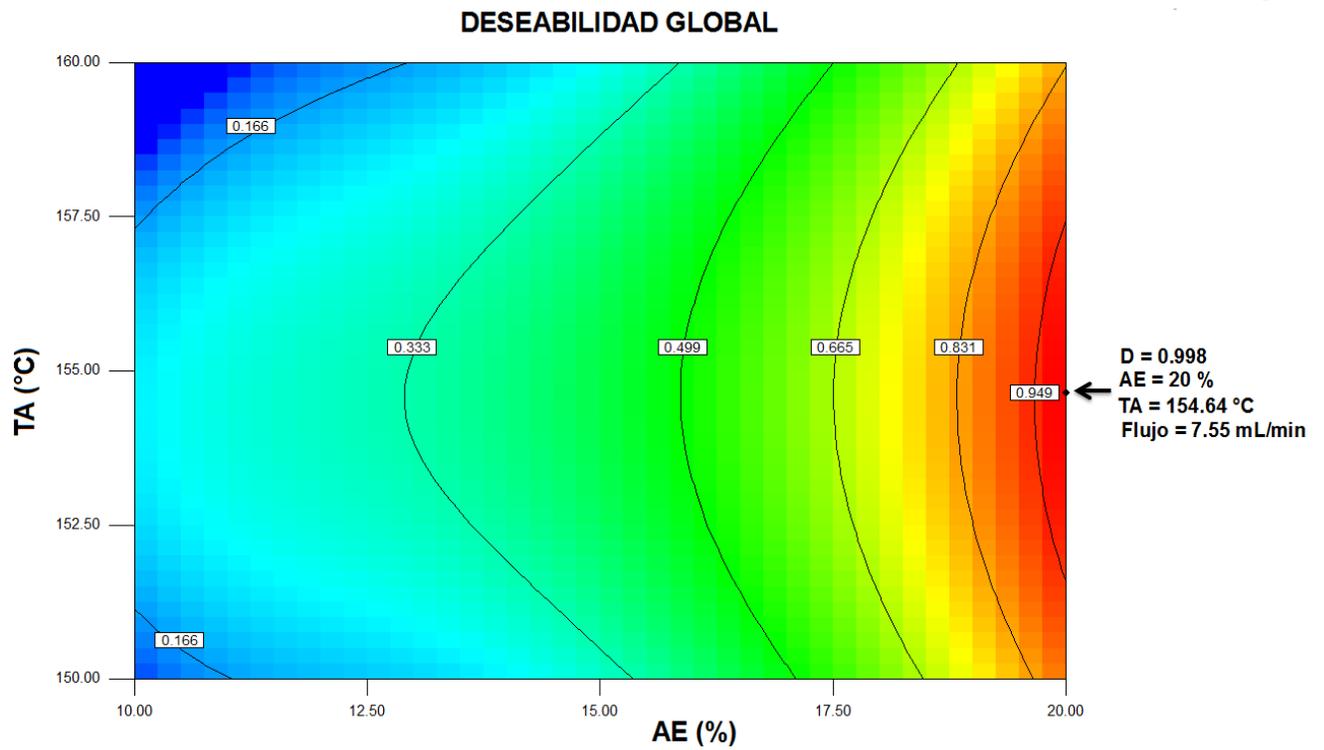


Figura 13. Gráfico de contornos para la deseabilidad global (**D**) mostrando la región con la mejor combinación de las variables del proceso de microencapsulación de astaxantina mediante secado por aspersion.

geométrico de las deseabilidades individuales de cada una de las variables de respuesta estudiadas [$D = d_R * d_{[Ast]}^{1/2}$]. D fue utilizada para determinar la mejor combinación de variables del proceso (condiciones óptimas) de encapsulación de astaxantina mediante secado por aspersión para la obtención de microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) con un alto rendimiento (R) y una alta concentración de astaxantina [Ast]. El procedimiento de optimización mediante el método numérico de deseabilidad tiene por objetivo encontrar los valores más altos posibles de D , los cuales se asocian con las mejores condiciones de procesamiento.

En la **Figura 13** se puede observar que los valores más altos de D se localizaron en la zona de color rojo ubicada en valores altos de AE y Flujo a cualquier valor de TA. Valores de D entre 0.6 y 0.8 son adecuados para sistemas alimenticios, siendo el valor ideal óptimo $D=1$.

Las condiciones óptimas de microencapsulación de astaxantina se muestran en el **Cuadro 12** y las cuales fueron 20 % de agente encapsulante (AE), 154.64 °C (~155 °C) de temperatura de entrada del aire de secado (TA) y 7.55 mL/min (~7.5 mL/min) de flujo de alimentación (Flujo). Estas condiciones óptimas correspondieron a un valor de deseabilidad global de $D = 0.998$ (**Figuras 13 y 14**), y las deseabilidades individuales de las variables de respuesta asociadas con esta D óptima fueron $d_R = 1$ y $d_{[Ast]} = 0.996$ (**Figura 14**).

d. Validación de las condiciones óptimas del proceso de microencapsulación de astaxantina

Para validar las condiciones óptimas de microencapsulación, se obtuvieron microencapsulados de astaxantina por quintuplicado (5 réplicas) empleando las

Cuadro 12. Condiciones óptimas de las variables de proceso para obtener microencapsulados de astaxantina con valores altos de rendimiento de microencapsulación (R) y de concentración de astaxantina [Ast]

Variables de Proceso	Condiciones óptimas obtenidas	Condiciones óptimas utilizadas
AE (%)	20	20
TA (°C)	154.64	155
Flujo (mL/min)	7.55	7.5

AE = Agente encapsulante

TA= Temperatura de entrada del aire de secado

Flujo= Flujo de alimentación al secador

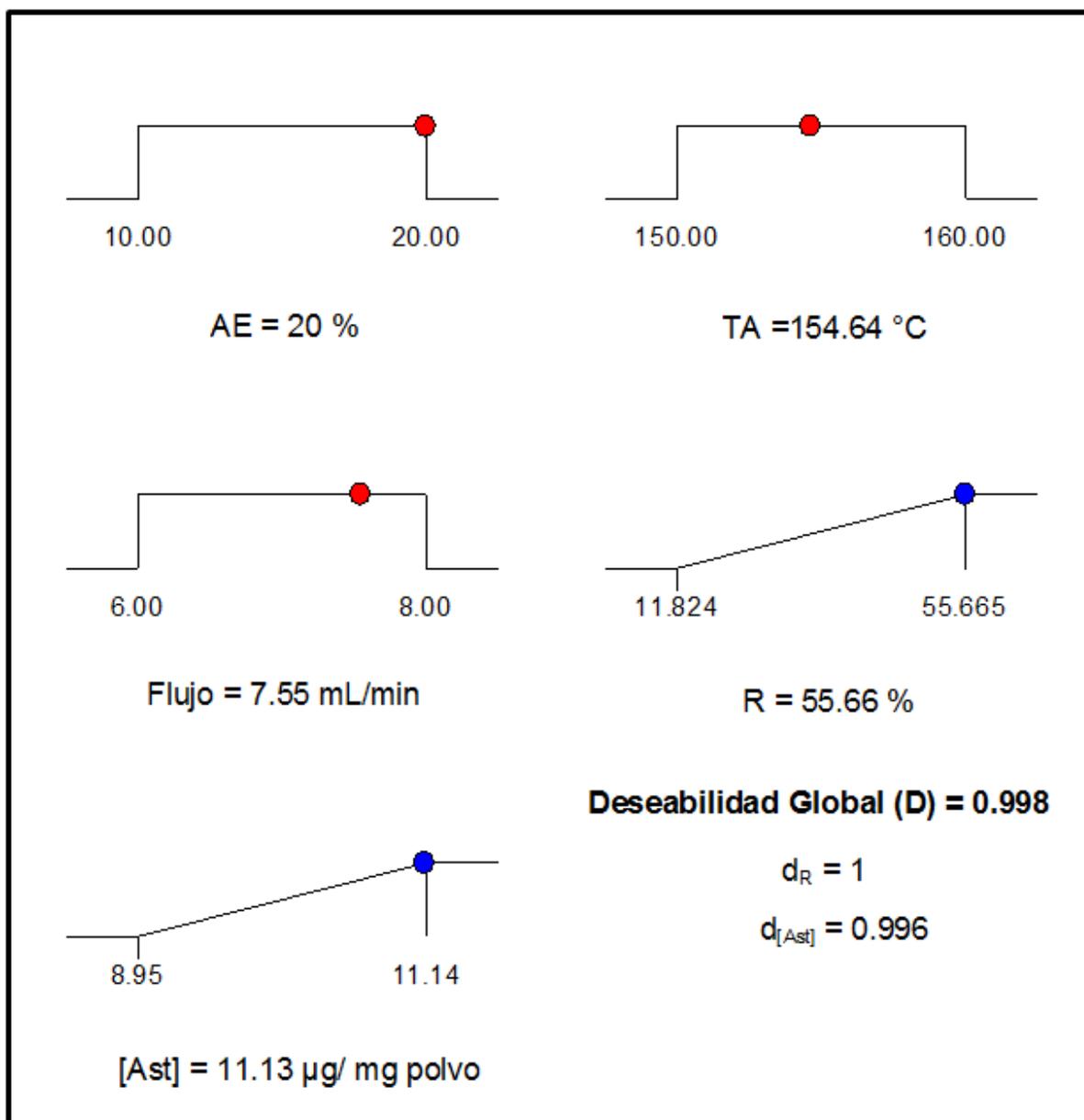


Figura 14. Gráficas mostrando las rampas y valores de deseabilidad individual de las variables de respuesta, los valores óptimos de las variables del proceso de microencapsulación de astaxantina (AE, TA, Flujo) y los valores predichos de R y [Ast] con las condiciones óptimas de procesamiento.

condiciones optimizadas de microencapsulación; a estos microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) se les evaluó experimentalmente por triplicado R y [Ast], y los resultados se contrastaron con los valores arrojados por los modelos matemáticos de predicción (valores promedio predichos) para cada una de las variables de respuesta estudiadas.

Adicionalmente, para validar las condiciones óptimas de microencapsulación se construyó un intervalo de confianza teórico para los valores promedio predichos de cada respuesta a partir de la zona de optimización, utilizando un nivel de confianza del 95%.

Los valores promedio predichos y experimentales, así como, los intervalos de confianza teóricos para los valores promedio predichos de R y [Ast] se muestran en el **Cuadro 13**.

Usando las condiciones óptimas de microencapsulación de astaxantina (AE = 20%, TA = 155 °C, Flujo = 7.5 mL/min), los modelos de regresión predijeron valores promedio de 55.6 % y 11.1 µg Ast/ mg polvo para R y [Ast], respectivamente. Los valores experimentales promedio de R y [Ast] fueron 53.5 % y 10.8 µg Ast/ mg polvo, respectivamente, los cuales fueron muy cercanos a los valores predichos por los modelos de regresión. Asimismo, el intervalo de confianza teórico para el valor promedio predicho de R fue 51.0 – 60.3 %, mientras que para el valor promedio predicho de [Ast] el intervalo teórico fue 10.7 – 11.4 µg Ast/ mg polvo. Se puede observar que los valores experimentales promedio de R y [Ast] cayeron dentro de estos intervalos de confianza teóricos contruidos a partir de la zona de optimización con un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 13. Valores teóricos y experimentales de las variables de respuesta evaluadas en microencapsulados de astaxantina optimizados obtenidos mediante secado por aspersión.

Intervalo de confianza para valor promedio predicho	Variables de respuesta	Valor promedio predicho	Valor promedio experimental
51.0 – 60.3	R (%)	55.6	53.5 ± 1.1
10.7 – 11.4	[Ast] (µg Ast/ mg polvo)	11.1	10.8 ± 0.3

R = Rendimiento del proceso de microencapsulación

[Ast] = Concentración de astaxantina en los microencapsulados

Con base a los resultados mencionados anteriormente se puede concluir que los resultados experimentales de R y [Ast] fueron satisfactorios con respecto a los valores pronosticados teóricamente, lo cual indica que los valores óptimos de AE, TA y Flujo, obtenidos para la microencapsulación de astaxantina, fueron adecuados y reproducibles.

B. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, EFICIENCIA DE MICROENCAPSULACIÓN (EM), ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (AA_{ox}), MORFOLOGÍA Y TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LOS MICROENCAPSULADOS DE ASTAXANTINA OPTIMIZADOS (MAO)

1. Humedad

Los microencapsulados de astaxantina optimizados presentaron un contenido de humedad promedio del 4.94 %, valor que estuvo por debajo de lo reportado por Bustos-Garza y col en 2013 (8.31-11.17 %), quienes probaron diferentes materiales de pared, para la obtención de microencapsulados de astaxantina a partir de extractos de *H. pluvialis*. El valor menor de humedad obtenido en la presente investigación puede deberse a que estos investigadores emplearon una temperatura de entrada del aire de secado (120°C) menor que la utilizada como óptima (155°C) en el presente trabajo. Hogan y col (2001) reportaron que, las variaciones en el contenido de humedad de microencapsulados de aceite de soya se debían principalmente a las temperaturas de secado que fueron empleadas y no al material de pared que fue utilizado.

2. Color

Los resultados de la medición de color en los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO), se presentan en la **Figura 15**. Los datos obtenidos de la medición de los parámetros de color en las 5 réplicas se localizan en el primer cuadrante del gráfico de color CIELAB. Los MAO tuvieron valores de 14.71 y 33.6 para a^* y b^* , respectivamente; el valor de ángulo hue (h°) fue de 66.36, el cual se encuentra entre los valores reportados por Montero y col en 2016 ($h^\circ = 47.7 \pm 0.1$) y Bustos-Garza y col en 2013 ($h^\circ = 70.2 \pm 0.2$) para microencapsulados de astaxantina elaborados a partir de extractos de los residuos de camarón y microencapsulados de astaxantina obtenidos a partir de extractos de *H. pluvialis*, respectivamente. Los valores de a^* (14.71), b^* (33.6) y ángulo hue (66.36 ± 0.03) o ángulo matiz indicaron que los MAO exhibieron una coloración entre naranja y amarilla (**Figura 15**).

3. Tiempo de dispersión en agua

Un gramo de los microencapsulados optimizados tardó aproximadamente 13 min (13.6 ± 1 min) en dispersarse en agua en condiciones estáticas, casi 6 y 19 minutos menos que los materiales de pared por sí solos (Maltodextrina = 19.4 ± 0.04 min y Goma arábiga = 32.5 ± 0.5 min). Lo anterior podría deberse a que los microencapsulados de astaxantina optimizados, además de la mezcla de los agentes encapsulantes también contienen lecitina. De acuerdo a lo declarado por Montero y col (2016), la difusión de aceite del centro a la superficie de los microencapsulados, podría disminuirse mediante la utilización de diversos materiales, como los emulsificantes.

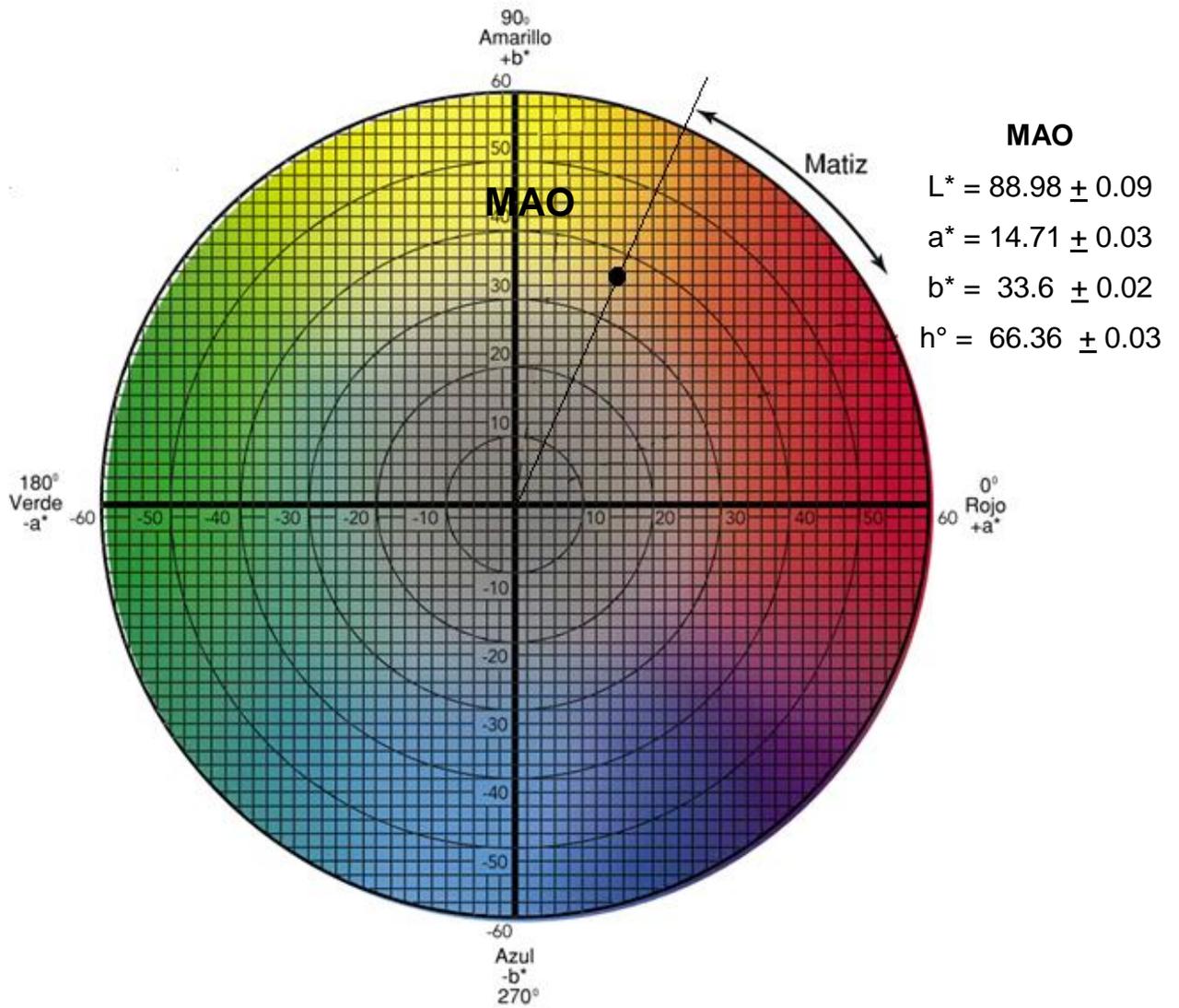


Figura 15. Gráfico de color CIELAB para los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

Por lo que, la adición de emulsificantes (como la lecitina) en la formulación, probablemente ayudó a disminuir la migración de aceite a la superficie de los microencapsulados y de esta manera además de mejorar la eficiencia de microencapsulación (EM), también se mejoran las propiedades de reconstitución de los microencapsulados en agua.

4. Solubilidad en agua

Los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) presentaron porcentajes altos (95.9 ± 1.06 %) de solubilidad en agua, similares a los reportados por Montero y col en 2016 (> 91 %) para sus microencapsulados de astaxantina elaborados a partir de extractos de residuos de camarón.

5. Eficiencia de microencapsulación (EM)

La EM para los microencapsulados optimizados fue del 89.1 ± 1.49 %, valor que se considera relativamente alto ($\approx 90\%$) e indican la formación de una "capa" protectora efectiva por parte de los materiales de pared durante el proceso de secado. EM altas confieren protección efectiva a los compuestos presentes dentro del núcleo, mientras que EM bajas pueden afectar la reconstitución de los microencapsulados en agua, esto debido a la presencia de una mayor cantidad de aceite o grasa en la superficie de los microencapsulados. A menor EM, mayor cantidad de aceite en la superficie de los microencapsulados lo que puede causar propiedades de reconstitución más bajas (Carneiro y col 2013).

Las altas EM son deseables ya que además de la protección efectiva que se le confiere a la astaxantina dentro del núcleo, estas EM altas también se pueden

traducir en mejores propiedades de reconstitución de los microencapsulados en agua, como ocurrió en este caso, en donde además de la alta EM obtenida, también se obtuvieron porcentajes altos de solubilidad y tiempos cortos de dispersión.

6. Morfología y tamaño de partícula

La morfología de los microencapsulados de astaxantina obtenidos en condiciones óptimas se muestra en las **Figuras 16 y 17**.

En las imágenes se observó que las microcápsulas presentaron una forma predominantemente esférica, con un rango de tamaño de partícula de aproximadamente 1 a 14 μm ; no presentaron grietas, ni fisuras aparentes, lo cual es una ventaja, ya que implica que las microcápsulas tienen una menor permeabilidad a los gases, aumentando así la protección y retención de la astaxantina.

La variedad en los tamaños de partícula obtenidos (1 a 14 μm) es una característica típica para las partículas producidas mediante secado por aspersión (Carneiro y col 2013). En las micrografías también se puede observar la presencia de concavidades en la superficie de los polvos; la presencia de este tipo de depresiones superficiales se asocia comúnmente con el colapso sufrido por las gotas durante las etapas iniciales de secado.

Sheu y Rosenberg (1995) demostraron que las altas velocidades de secado, asociadas a partículas pequeñas, generalmente conducen a una solidificación más rápida de la pared obteniéndose en consecuencia una superficie menos lisa.

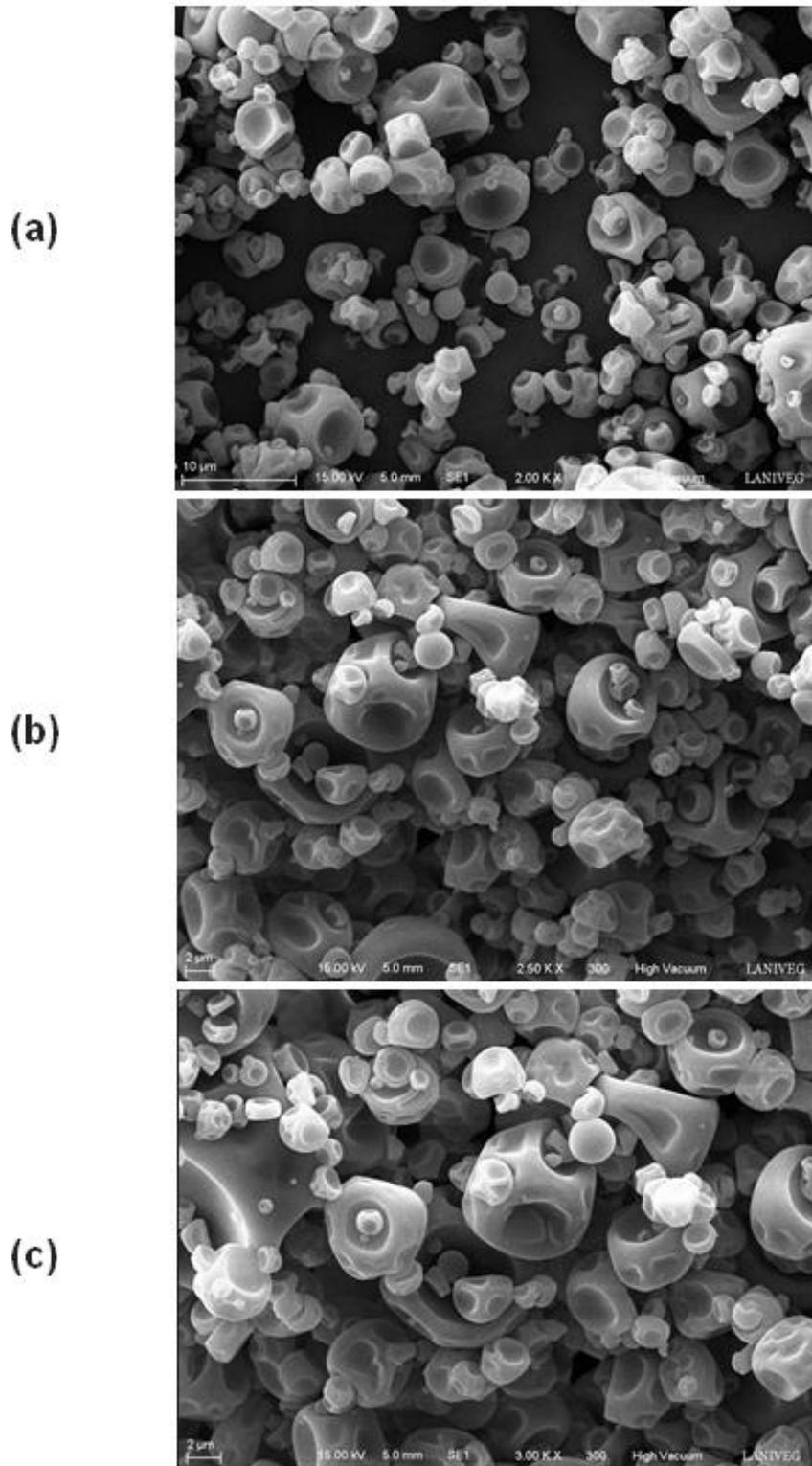


Figura 16. Micrografías (MEB) de los microencapsulados de astaxantina optimizados a diferentes magnificaciones: (a) 2000x, (b) 2500x y (c) 3000x.

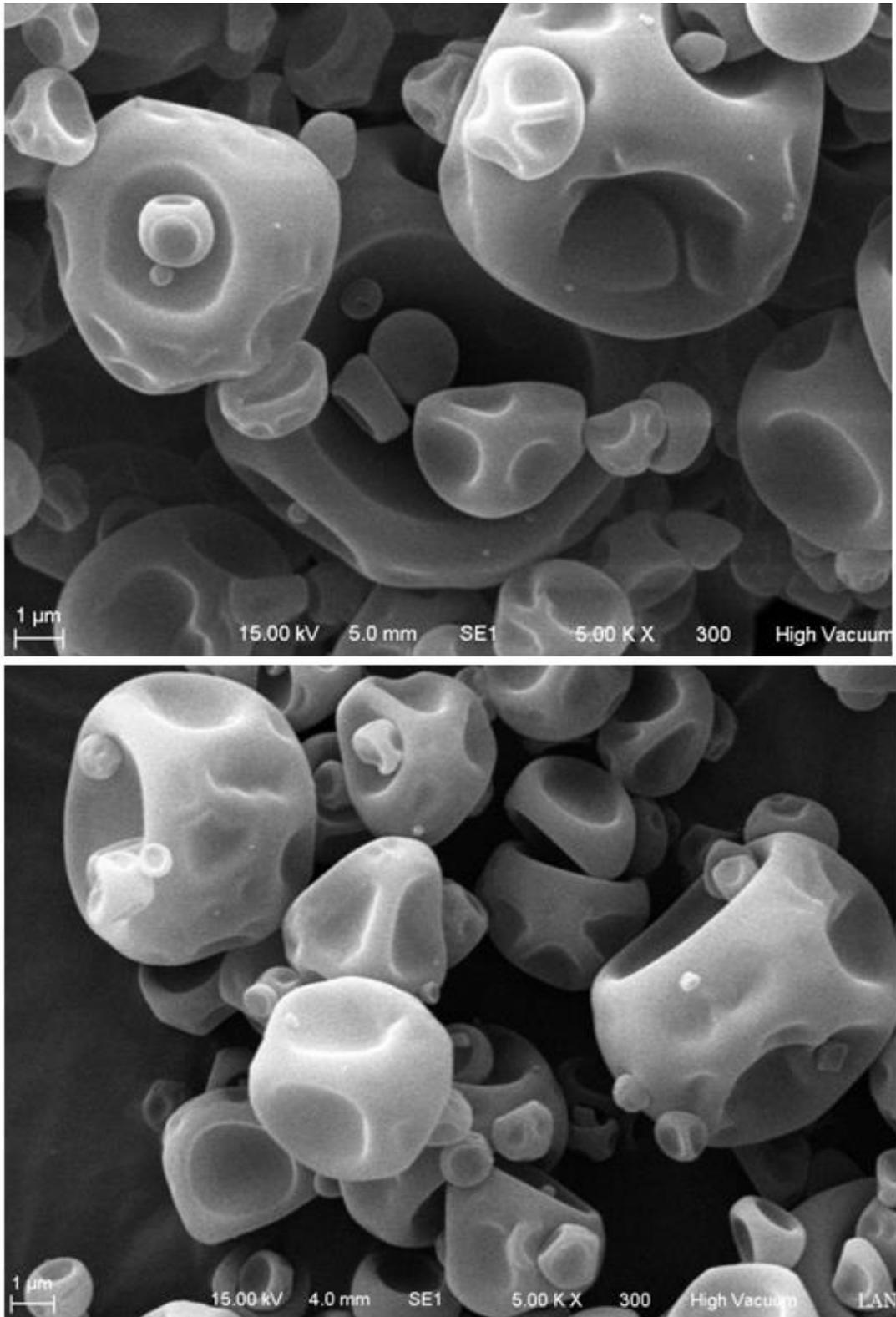


Figura 17. Micrografías (MEB) de los microencapsulados de astaxantina optimizados a 5000x, en 2 diferentes campos de observación.

7. Propiedades de Flujo

En el **Cuadro 14** se presentan las propiedades de flujo para los microencapsulados de astaxantina optimizados.

Los MAO presentaron una densidad aparente de 0.23 ± 0.005 g/mL, valor que se encuentra entre los valores reportados por Fernandes y col (2013) (0.305 ± 0.05 g/mL) para microencapsulados de aceite esencial de romero y los valores reportados por Jinapong y col (2008) (0.215 ± 0.005 g/mL) para leche de soya en polvo obtenida mediante secado por aspersión.

Souza y col (2009), estudiaron la relación entre la densidad aparente y las temperaturas de secado y observaron que la densidad aparente disminuye con el incremento de la temperatura de entrada del aire de secado, ya que, a altas temperaturas, las velocidades de evaporación son más rápidas y en consecuencia el producto seco obtenido tiene una estructura más hueca.

La tendencia de las temperaturas altas de secado a formar partículas más huecas o porosas se puede ver en las micrográficas de los microencapsulados optimizados, en donde se observan depresiones superficiales asociadas con el colapso sufrido por las gotas durante el secado (Sheu y Rosenberg 1995). Probablemente la temperatura óptima de secado utilizada (155°C) pudo haber causado una disminución de la densidad aparente de los MAO; esto es, si se compara la densidad aparente de los MAO con la densidad de los demás polvos antes del secado (Maltodextrina y GA), éstos presentaron valores más altos de densidad aparente (0.48 y 0.455 g/mL, respectivamente).

Cuadro 14. Resultados de las propiedades de flujo de los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)

Densidad aparente (g/mL)	Densidad compactada (g/mL)	Índice de Hausner
0.23 ± 0.005	0.63 ± 0.05	2.75 ± 0.27

Compresibilidad (%)	Densidad de partícula (g/mL)	Porosidad (%)
63.62 ± 4.59	1.49 ± 0.03	61.11 ± 4.9

La densidad compactada es un factor importante relacionado principalmente con el empaque, transporte y comercialización de polvos, debido a que este valor suele ser útil en términos del peso o cantidad de material que cabe en un contenedor. Los resultados de densidad compactada obtenidos para MAO fueron 0.63 ± 0.05 g/mL, similares a los reportados por Finney y col (2002) (0.57 ± 0.08 g/mL) para microencapsulados de aceite esencial de naranja.

El índice de Hausner (IH) determina la cohesividad que tienen los polvos. Valores de índice de Hausner < 1.2 indican baja cohesividad, valores entre 1.2 y 1.4 indican cohesividad intermedia y valores de IH >1.4 indican alta cohesividad (Islam y col 2017). En este caso, los MAO presentaron un IH de 2.75 ± 0.27 , lo que indica una alta cohesividad de los MAO, mientras que la compresibilidad o índice de Carr indica de qué manera la presión reduce el volumen de un conjunto de gránulos y sirve para determinar la fluidez de los polvos. Porcentajes de compresibilidad de: <15 , 15-20, 20-35, 35-45 y >45 %, indican excelente, buena, intermedia, poca y muy poca fluidez, respectivamente (Islam y col 2017), por lo que los MAO presentaron muy poca fluidez (63.62 ± 4.59).

Estas propiedades en los MAO (alta cohesividad y muy poca fluidez) podrían deberse al tamaño de las microcapsulas, ya que las partículas pequeñas presentan una área de superficie alta por unidad de masa (Fernandes y col 2013) y la presencia de una área de superficie de contacto alta entre partículas podría permitir la formación de fuerzas de atracción y cohesión más grandes que conducirían a una resistencia a fluir, además de que con el tiempo estos polvos con alta cohesividad y poca fluidez pueden tender a endurecerse y apelmazarse al aplicar alguna presión sobre ellos (Polanco-Murrieta 2017).

La densidad de partícula y por ende la porosidad, de los productos obtenidos mediante secado por aspersión, depende o está influenciada por varios factores como lo son la temperatura del aire de secado, las condiciones de atomización, así como por la naturaleza de la emulsión de alimentación (contenido de sólidos, viscosidad, tipos de encapsulantes) (Fernandes y col 2013). Los MAO alcanzaron valores de porosidad de $61.11 \pm 4.9\%$, similares a los alcanzados por Fernandes y col (2013) ($59.26 \pm 6.4\%$) para microencapsulados de aceite esencial de romero.

8. Actividad antioxidante (AAox)

Para la actividad antioxidante se obtuvieron valores de 22.05 ± 1.5 mmol ET/ 100 g de microencapsulados de astaxantina optimizados, valores que se encuentran por arriba de los reportados por Sáenz y col (2009) para microencapsulados obtenidos a partir de extractos etanolicos de cáscara de tuna (0.28 mmol ET/ 100 g encapsulados) y de los reportados por Ruiz-Canizales (2015) para microencapsulados de extractos metanolicos de maíz azul (7 mmol ET/100 g polvo).

C. FORMULACIÓN, COMPOSICIÓN QUÍMICA, CONTENIDO ENERGÉTICO, PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y SENSORIALES, CONTENIDO DE ASTAXANTINA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE BEBIDAS A BASE DE AMARANTO Y JUGO DE FRUTAS, ADICIONADAS CON MICROENCAPSULADOS DE ASTAXANTINA OPTIMIZADOS (MAO)

1. Formulación de las bebidas

En el **Cuadro 15**, se muestra la formulación final para las 3 bebidas elaboradas a base de proteína de amaranto y/o jugo de frutas, adicionadas con los microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO).

Para la formulación de las bebidas a base de amaranto, se tomó como referencia una bebida comercial elaborada a partir de leche de soya y mezcla de jugos de frutas (Ades® Frutal Durazno), y la cual también se empleó como control en el presente trabajo de investigación.

2. Composición química y contenido energético

La composición química de las 3 bebidas adicionadas con MAO y de la bebida comercial se presenta en el **Cuadro 16**.

El contenido de proteína, grasa y cenizas fue diferente entre los 4 tipos de bebidas evaluadas, siendo coherente que la bebida que se elaboró a partir de un concentrado líquido de proteína de amaranto (B1) fuera la que presentó el contenido más alto de proteína (0.753 g proteína / 100 mL bebida).

En lo que se refiere al contenido de grasa, a pesar de que las bebidas B1 y B2 se elaboraron a partir de las mismas materias primas (semillas de amaranto y jugos de frutas), éstas presentaron diferencias significativas en cuanto al contenido de grasa (B1= 0.256 g/100 mL; B2= 0.551 g/100 mL), lo cual podría atribuirse a que, a las semillas utilizadas para la elaboración de la bebida B1, se les aplicó tratamientos adicionales entre los que se encuentra un proceso de desengrasado de la harina obtenida a partir de las semillas de amaranto.

Cuadro 15. Formulación de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)

Ingredientes	Bebida c/ proteína de amaranto	Bebida c/ leche de amaranto	Bebida tipo limonada
Conc. proteína amaranto	28.565 g	*	*
Leche de amaranto	*	29.735 g	*
Jugo de manzana	9.900 g	9.900 g	*
Jugo de durazno	57.100 g	59.100 g	*
Pulpa de fresa	*	*	7.900 g
Goma arábica	3.300 g	*	*
Jugo de limón (endulzado con 0.1 % sucralosa)	*	*	11.800 g
Stevia al 90%	0.065 g	0.065 g	0.065 g
Ácido cítrico	0.070 g	0.070 g	*
Pectina LM	*	0.100 g	0.100 g
CaCl ₂	*	0.030 g	0.030 g
MAO	1.000 g	1.000 g	1.000 g
Agua	*	*	79.105 g
TOTAL	100 g	100 g	100 g

Cuadro 16. Composición química de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y de una bebida comercial

Componente	Bebida c/ proteína de amaranto (B1)	Bebida c/ leche de amaranto (B2)	Bebida tipo limonada (B3)	Bebida comercial (B4)
Humedad (g/ 100 mL)	86.23 ± 0.02 ^d	88.79 ± 0.00 ^c	97.21 ± 0.01 ^a	94.45 ± 0.02 ^b
Proteína (g/ 100 mL)	0.753 ± 0.00 ^a	0.390 ± 0.01 ^c	0.096 ± 0.0 ^d	0.553 ± 0.01 ^b
Grasa (g/ 100 mL)	0.256 ± 0.01 ^c	0.551 ± 0.01 ^a	0.087± 0.02 ^d	0.483 ± 0.02 ^b
Cenizas (g/ 100 mL)	0.305 ± 0.01 ^a	0.262 ± 0.01 ^b	0.073± 0.01 ^d	0.127 ± 0.00 ^c
Fibra dietaria total (g/ 100 mL)	0.60 ± 0.1 ^a	0.30 ± 0.1 ^b	0.15 ± 0.0 ^b	0.20 ± 0.0 ^b
Ac. cítrico (g/ 100 mL)	0.07	0.07	--	--
Maltodextrina (g/ 100 mL)	0.49	0.49	0.49	--
Goma arábica (g/ 100 mL)	3.79	0.49	0.49	--
Stevia (g/ 100 mL)	0.065	0.065	0.065	--
Carbohidratos disponibles (g/ 100 mL)	7.441*	8.592*	1.339*	4.187*

Los valores se reportaron como el promedio de 3 replicas ± desviación estándar. Medias con diferente letra en la misma fila, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, p≤0.05).

*Cálculo obtenido por diferencia de 100 y todos los componentes químicos reportados en el Cuadro en base húmeda. B4= Ades® Frutal Durazno.

Los resultados de la composición química de las bebidas, se utilizaron para el cálculo teórico del contenido energético (**Cuadro 17**). La presentación de la información nutrimental calculada para las 4 bebidas se muestra en el **Cuadro 18**, de acuerdo con los parámetros de redondeo establecidos en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, en donde podemos observar que el contenido energético fue de 90, 90, 20 y 45 kcal/ porción de las bebidas B1, B2, B3 y B4, respectivamente.

La Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, menciona que un producto es considerado bajo en calorías cuando, su contenido energético es menor o igual a 40 kcal/porción. La bebida tipo limonada adicionada con MAO (B3) proporciona 20 kcal/porción, por lo que se puede ser considerada como “bebida baja en calorías”.

3. Propiedades fisicoquímicas

A las bebidas adicionadas con MAO, además de su composición química y de su contenido energético también se les determinaron sus propiedades fisicoquímicas, las cuales se muestran en el **Cuadro 19**.

Las 4 bebidas analizadas son bebidas ácidas ($\text{pH} < 7$), siendo la limonada (B3) la que presentó el pH más bajo (3.26 ± 0.05) debido a la naturaleza de sus ingredientes.

Mientras que no existió diferencia significativa entre los valores de pH de las bebidas elaboradas a base de amaranto (B1 y B2). El objetivo de trabajar con bebidas ácidas, se debió principalmente a la recomendación de algunos autores, como fue el caso de Villalobos-Castillejos y col (2013) quienes recomendaron el uso

Cuadro 17. Cálculo del contenido energético por porción (200 mL) de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial

Componente	Factor de energía utilizado (kcal/g)	B1 ((g / 200 mL) x Factor))	B2 ((g / 200 mL) x Factor))	B3 ((g / 200 mL) x Factor))	B4 ((g / 200 mL) x Factor))
Proteína	4	1.5 x 4 = 6.02	0.78 x 4 = 3.12	0.19 x 4 = 0.77	1.1 x 4 = 4.42
Grasa	9	0.512 x 9 = 4.61	1.1 x 9 = 9.92	0.17 x 9 = 1.57	0.96 x 9 = 8.69
Carbohidratos disponibles	4	14.8 x 4 = 59.53	17.1 x 4 = 68.74	2.67 x 4 = 10.7	8.37 x 4 = 33.5
Fibra dietaria	2	1.2 x 2 = 2.4	0.6 x 2 = 1.2	0.3 x 2 = 0.6	0.4 x 2 = 0.8
Ac. cítrico	3	0.14 x 3 = 0.42	0.14 x 3 = 0.42	--	--
Maltodextrina	4	0.98 x 4 = 3.92	0.98 x 4 = 3.92	0.98 x 4 = 3.92	--
Goma arábica	2	7.58 x 2 = 15.16	0.98 x 2 = 1.96	0.98 x 2 = 1.96	--
Stevia	0	0.13 x 0 = 0	0.13 x 0 = 0	0.13 x 0 = 0	--
TOTAL (kcal / 200 mL)		92.06	89.28	19.52	46.61

B1 = Bebida con proteína de amaranto, B2 = Bebida con leche de amaranto, B3 = Bebida tipo limonada, B4 = Bebida Comercial Ades® Frutal Durazno

Cuadro 18. Información nutrimental para las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial

	Cantidad por porción			
	(B1)	(B2)	(B3)	(B4)
Contenido energético	90 kcal (418 kJ)	90 kcal (377 kJ)	20 kcal (84 kJ)	45 kcal (188 kJ)
Proteínas	2 g	Menos de 1 g	0 g	1 g
Grasas	0.5 g	1 g	0 g	1 g
Carbohidratos	15 g	17 g	2.5 g	8.5 g
Fibra dietética	1 g	Menos de 1 g	0 g	0 g

B1 = Bebida con proteína de amaranto, B2 = Bebida con leche de amaranto, B3 = Bebida tipo limonada, B4 = Bebida Comercial (Ades® Frutal Durazno). Tamaño de la porción = 200 mL.

Cuadro 19. Propiedades fisicoquímicas de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial

Parámetro	Bebida c/ proteína de amaranto (B1)	Bebida c/ leche de amaranto (B2)	Bebida tipo limonada (B3)	Bebida comercial (B4)
pH	4.17 ± 0.06 ^a	4.15 ± 0.03 ^{a,b}	3.26 ± 0.05 ^c	4.05 ± 0.02 ^b
Sólidos solubles (°Brix)	12.9 ± 0.0 ^a	11 ± 0.1 ^b	2.7 ± 0.0 ^d	5.1 ± 0.0 ^c
Viscosidad ^{4°} (cP)	11.3 ± 0.5 ^b	14.3 ± 1.1 ^a	11 ± 1.4 ^b	4 ± 1.4 ^c

Los valores se reportaron como el promedio de 3 replicas ± desviación estándar. Medias con diferente letra en la misma fila, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, p≤0.05). 4° =Evaluada a 4°C. B4= Ades® Frutal Durazno

de astaxantina en productos alimenticios con pH ácido ($\text{pH} \approx 4$), como las bebidas cítricas, el yogurt y postres a base de gelatina. Lo anterior es debido a que ciertas xantofilas como la astaxantina son excepcionalmente lábiles en medios alcalinos, ejemplo de ello son las observaciones de Meléndez y col (2006), quienes reportaron que una disminución del 60% del tiempo de vida media de la astaxantina ocurrió cuando el pH se incrementó de 4 a 7.

Todas las propiedades fisicoquímicas de las bebidas, se determinaron 24 h después de su elaboración, para lo cual se almacenaron en refrigeración hasta alcanzar una temperatura de 4°C .

La viscosidad fue diferente entre los 4 tipos de bebidas analizadas, siendo la bebida a base de leche de amaranto (B2) la que presentó la mayor viscosidad (14.3 ± 1.1 cP), esto debido a que la fracción de almidón presente, en el extracto acuoso (leche de amaranto) que se utiliza para la elaboración de la bebida, se gelatiniza al someter la leche de amaranto a un proceso térmico, aumentando con ello la viscosidad de la bebida final (B2) (Soteras 2011).

4. Concentración de astaxantina

En lo que se refiere a la concentración de astaxantina ($[\text{Ast}]$) en las bebidas, en el **Cuadro 20**, se puede observar que no hubo diferencia significativa entre B3 (limonada con 1% p/p MAO), C4 (control a pH 4 al cual se le añadió 1% p/p de MAO) y C7 (control a pH 7 al cual se le añadió 1% p/p de MAO); sin embargo, se observa que si existe diferencia entre B3 (limonada) y las bebidas a base de amaranto (B1 y B2). Lo anterior podría deberse a las diferencias en su formulación, ya que para las bebidas B1 y B2 además de extracto de semillas de amaranto, se utilizó mezcla de

Cuadro 20. Concentración de astaxantina en bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO)

Tipo de bebida	[Ast] (mg Ast/ 200 mL)
B1 (Bebida con concentrado de amaranto)	23.2 ± 1.1 ^b
B2 (Bebida con leche de amaranto)	29.3 ± 1.8 ^a
B3 (Limonada)	19.1 ± 1.0 ^c
C4 (SBF a pH 4 con MAO)	18.6 ± 0.8 ^c
C7 (SBF a pH 7 con MAO)	18.2 ± 0.8 ^c
CB2 (Bebida 2 sin MAO)	7.7 ± 1.6 ^d

Los valores se reportaron como el promedio de 3 réplicas ± desviación estándar. Medias con diferente letra minúscula superíndice en la misma columna, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, p≤0.05). SBF= Solución buffer de fosfatos.

jugos, entre ellos el jugo de durazno, el cual de acuerdo a lo reportado por Herrero y Guardia (1992), es rico en carotenoides, responsables de su coloración, entre los que se pueden citar al fitoeno, fitoflueno, γ -caroteno, α -caroteno, β -caroteno, α -criptoxantina, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, luteína-5-6-epoxido, violaxantinas, luteoxantina, auroxantina y persicoxantina, por lo que podría ser, que al momento de cuantificar la astaxantina en las bebidas, algunos de los carotenoides presentes en el jugo de durazno, pudieron haber interferido en las lecturas de absorbancia y se pudieron haber cuantificado como astaxantina, como ocurrió con el control de la bebida 2 (CB2) en donde se obtuvieron valores de [Ast] de 7.7 ± 1.6 mg Ast/ 200 mL, a pesar de que a esta bebida no se le adicionaron MAO.

5. Actividad antioxidante (AAox)

Las bebidas elaboradas a base de amaranto (B1 y B2), no presentaron diferencia en cuanto a su actividad antioxidante (**Cuadro 21**), mientras que la limonada (B3) es la bebida que presentó la mayor actividad antioxidante, a pesar de que a las 3 bebidas se les adiciono el mismo porcentaje de MAO (1% p/p).

Kuskoski y col (2004) mencionaron que la capacidad antioxidante de una mezcla, no viene dada por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, sino que, está también depende del microambiente en se encuentra el compuesto, ya que los componentes interactúan entre sí, pudiéndose producir efectos sinérgicos o inhibitorios entre ellos; esto podría explicar porqué las diferencias en la formulación, arrojaron diferencias en la AAox de las bebidas.

Cuadro 21. Actividad antioxidante de bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial

Tipo de bebida	AAox* (μ moles ET/ 200 mL)
B1 (Bebida con concentrado de amaranto)	1670.9 \pm 140 ^b
B2 (Bebida con leche de amaranto)	1592.7 \pm 43.7 ^b
B3 (Limonada)	2089.5 \pm 2.7 ^a
B4 (Bebida comercial)	956.8 \pm 25.5 ^d
CB1 (Bebida 1 sin MAO)	783.3 \pm 56.2 ^e
CB2 (Bebida 2 sin MAO)	703.88 \pm 102.2 ^e
CB3 (Bebida 3 sin MAO)	1150.13 \pm 33.2 ^c

Los valores se reportaron como el promedio de 3 replicas \pm desviación estándar. Medias con diferente letra minúscula superíndice en la misma columna, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, $p \leq 0.05$).

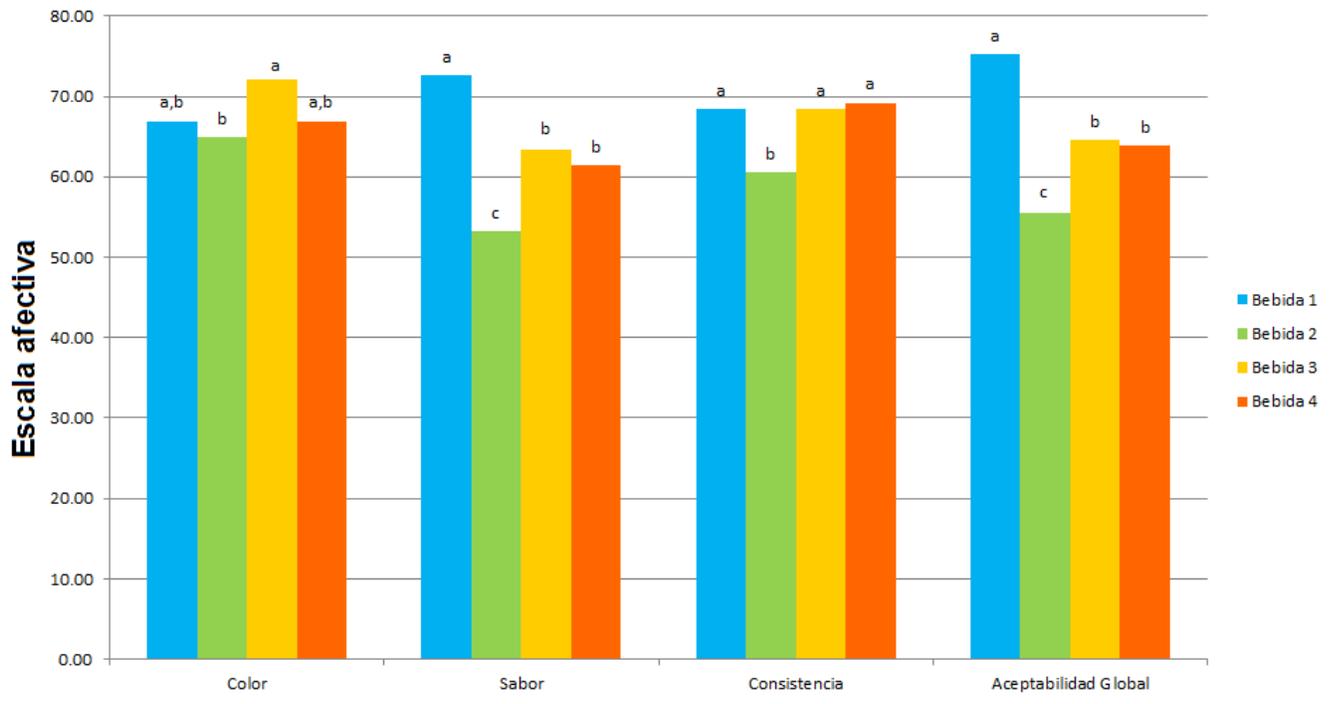
* = Determinación de AAox mediante método ABTS.

Solo por fines comparativos, se determinó la AAox a una bebida comercial (B4), la cual presentó una mayor AAox (956.8 ± 25.5 μ moles ET/ 200 mL) al compararse con un control de la bebida 2 (CB2), a la cual no se le añadieron MAO; es decir, la AAox de la bebida a base de leche de soya y jugo de frutas (B4) fue mayor a la AAox de la bebida elaborada a base de leche de amaranto y jugo de frutas, sin MAO añadidas (CB2= 703.88 ± 102.2 μ moles ET/ 200 mL). Pero, si la bebida comercial (B4) se compara con el mismo tipo de bebida, pero adicionada de MAO (B2), entonces ahora la bebida comercial es la que presentó menor AAox.

La comparación de la AAox entre el mismo tipo de bebida, siendo la única variante, la adición o no de MAO, nos permitió comprobar que la incorporación de 1% p/p de MAO, resultó en un aumento significativo (+82-126%) de su actividad antioxidante (AAox B1 > AAox CB1; AAox B2 > AAox CB2; AAox B3 > AAox CB3).

6. Análisis sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y la bebida comercial se muestran en la **Figura 18** y el **Cuadro 22**. Se realizó la evaluación sensorial sobre los descriptores color, sabor, consistencia y aceptabilidad global de las bebidas adicionadas con MAO (B1, B2, B3) y de la bebida comercial (B4). Las bebidas se evaluaron con 50 jueces no entrenados, haciendo uso de una escala LAM (labeled affective magnitude), la cual es una escala bidireccional de 100 mm con una descripción verbal con rangos que van desde -100 (máximo valor de disgusto imaginable) hasta +100 (máximo gusto imaginable), en donde cero (ni me gusta, ni me disgusta) es el punto central. Posteriormente estos valores fueron transformados



Medias de atributos evaluados

Figura 18. Gráfica mostrando los resultados de las propiedades sensoriales de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y la bebida comercial. Medias con diferente letra en las barras del mismo atributo, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, $p < 0.05$). Bebida 1 = Bebida con proteína de amaranto, Bebida 2 = Bebida con leche de amaranto, Bebida 3 = Bebida tipo limonada, Bebida 4 = Bebida comercial.

Cuadro 22. Propiedades sensoriales de las bebidas adicionadas con microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) y bebida comercial

Parámetro	Bebida c/ proteína de amaranto (B1)	Bebida c/ leche de amaranto (B2)	Bebida tipo limonada (B3)	Bebida comercial (B4)
Color	66.9 ± 13.7 ^{a,b}	64.8 ± 16.43 ^b	72.0 ± 16.4 ^a	66.8 ± 15.4 ^{a,b}
Sabor	72.6 ± 14.7 ^a	53.2 ± 20.9 ^c	63.3 ± 18.6 ^b	61.3 ± 19.9 ^b
Consistencia	68.3 ± 14.7 ^a	60.5 ± 16.7 ^b	68.3 ± 15.1 ^a	69.2 ± 15.5 ^a
Aceptabilidad Global	75.2 ± 8.2 ^a	55.5 ± 18.3 ^c	64.5 ± 17.7 ^b	63.8 ± 17.7 ^b

Los valores se reportaron como el promedio de las evaluaciones realizadas por 50 jueces no entrenados ± desviación estándar. Medias con diferente letra en la misma fila, indican diferencias significativas (Prueba de Duncan, $p \leq 0.05$). Las bebidas evaluadas sensorialmente tenían una temperatura entre 4 y 6 °C. Valores de la escala LAM correspondientes a cada uno de los niveles de agrado o desagrado de la escala hedónica de 11 puntos: 0 = El mayor disgusto imaginable, 12.25 = Me disgusta extremadamente, 22.25 = Me disgusta mucho, 34.06 = Me disgusta moderadamente, 44.69 = Me disgusta ligeramente, 50 = Ni me gusta, ni disgusta, 55.62 = Me gusta ligeramente, 68.12 = Me gusta moderadamente, 78.06 = Me gusta mucho, 87.11 = Me gusta extremadamente, 100 = El mayor gusto imaginable.

a una escala de 0 a 100 [0=máximo valor de disgusto imaginable; 100= máximo gusto imaginable, donde 50=ni me gusta, ni me disgusta] (Cardello y Schutz 2004).

Los resultados de la evaluación sensorial de color de las bebidas indicaron que la bebida 3 (bebida tipo limonada adicionada con MAO) fue la presentó los valores más altos (72.0 ± 16.4). Este resultado se ubicó entre los descriptores de “me gusta moderadamente” y “me gusta mucho” en la escala hedónica de 11 puntos. La bebida 2 (bebida de leche de amaranto adicionada con MAO) fue la presentó los valores más bajos de color (64.8 ± 16.43) de acuerdo a la apreciación de los jueces, ubicándose entre “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”. Las bebidas 1 (bebida a base de concentrado de amaranto adicionada con MAO) y 4 (bebida comercial) presentaron valores de aceptabilidad de color (66.9 ± 13.7 y 66.8 ± 15.4 , respectivamente) ubicados entre los mismos descriptores que se ubicó la bebida 2 (entre “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”).

En el caso de los resultados para la evaluación sensorial del sabor, se puede observar que la Bebida 1 (bebida a base de concentrado de amaranto adicionada con MAO) presentó los valores más altos de agrado (72.6 ± 14.7) y se ubicó entre los descriptores de “me gusta moderadamente” y “ me gusta mucho”, opuesto a la bebida 2 (bebida a base de leche de amaranto adicionada con MAO), que presentó los valores más bajos de agrado (53.2 ± 20.9), que la ubicaron entre “ni me gusta, ni me disgusta” y “ me gusta ligeramente” en la escala hedónica de 11 puntos.

Los valores de la evaluación sensorial del sabor entre las bebidas B3 (bebida tipo limonada adicionada MAO) y B4 (bebida comercial), no presentaron diferencias significativas en cuando a este atributo, y se ubicaron en la escala hedónica entre

“me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”, un resultado de aceptabilidad sensorial de sabor mejor que la bebida 2.

Con respecto al atributo de consistencia, no hubo diferencia significativa entre las bebidas 1, 3 y 4 de acuerdo a la evaluación de los jueces, y los valores obtenidos se ubicaron entre “me gusta moderadamente” y “me gusta mucho”. La bebida 2 presentó un valor de aceptabilidad sensorial de consistencia significativamente menor que las tres bebidas mencionadas anteriormente, y la cual se ubicó entre los descriptores de “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”.

Al analizar los resultados de la evaluación de aceptabilidad global, la bebida B1 presentó los valores más altos (69.0 ± 13.0), ubicándose entre los descriptores “me gusta moderadamente” y “me gusta mucho”. Las bebidas B3 y B4 no presentaron diferencia significativa y se ubicaron en la escala hedónica entre los descriptores “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”. En contraste, B2 fue la bebida que presentó los valores más bajos de aceptabilidad global (55.5 ± 18.3) y se ubicó entre “ni me gusta, ni me disgusta” y “me gusta ligeramente”.

Por lo mencionado anteriormente, se puede decir que, de las bebidas adicionadas con MAO, la bebida B1 (bebida a base de concentrado de proteína de amaranto) fue la bebida que presentó la mayor aceptabilidad sensorial, basada en los descriptores color, sabor, consistencia y aceptabilidad global.

La bebida adicionada con MAO que presentó un valor de aceptabilidad sensorial ligeramente menor que B1 fue B3 (bebida tipo limonada), la cual tuvo un resultado de aceptabilidad sensorial similar a B4 (bebida comercial).

Finalmente, B2 (bebida a base de leche de amaranto) fue la bebida adicionada con MAO que presentó los valores más bajos de aceptabilidad sensorial.

Posiblemente, la bebida B2 presentó una aceptabilidad sensorial menor debido a que, el panel de jueces no entrenados que se empleó para realizar dicha evaluación no consume regularmente productos de amaranto, como es el caso de la leche de amaranto.

Si la bebida (B2) es evaluada por un panel de jueces que consuma de manera regular leche de amaranto, posiblemente, la calificación sensorial de esta bebida podría incrementar su valor.

La bebida B1 presentó una mejor aceptabilidad sensorial que B2, debido, probablemente, a las diferencias en las técnicas empleadas para extraer la proteína de las semillas de amaranto; en el caso de la leche de amaranto, la proteína fue extraída con agua, mientras que la extracción de proteína de amaranto para la bebida B1 se realizó por el método de solubilización, seguido de precipitación, en medio alcalino y ácido, respectivamente.

En el caso de la leche de amaranto, el agua probablemente arrastro compuestos químicos presentes en las semillas de amaranto que le imparten un sabor característico al producto, lo cual pudo haber impactado de manera negativa en los resultados de evaluación sensorial de dicha bebida.

IX. CONCLUSIONES

- 1) Se obtuvieron modelos matemáticos de predicción adecuados y reproducibles ($p \leq 0.05$, R^2 ajustada ≥ 0.80 , $p_{\text{falta de ajuste}} > 0.05$, $CV \leq 10\%$) para las variables de respuesta estudiadas (rendimiento (R) y concentración de astaxantina [Ast]) en el proceso de microencapsulación de astaxantina.
- 2) La mejor combinación de las variables del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersion para la obtención de microencapsulados de astaxantina optimizados (MAO) con valores altos de R (53.5%) y [Ast] (10.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ polvo) fueron contenido de agente encapsulante (AE) = 20 %, temperatura de entrada de aire al secador (TA) = 155 °C y flujo de alimentación al secador (Flujo) = 7.5 mL/min.
- 3) Los datos experimentales obtenidos para cada una de las variables de respuesta estudiadas fueron similares a los valores predichos arrojados por los modelos de predicción, lo que significa que las condiciones de microencapsulación optimizadas fueron adecuadas y reproducibles.
- 4) Los MAO tuvieron buenas propiedades fisicoquímicas [humedad baja (4.94 %), coloración entre naranja y amarilla (ángulo hue = 66.3), tiempo de dispersión en agua bajo (13 min), solubilidad en agua alta (95.9 %)], con eficiencia de microencapsulación (EM) y actividad antioxidante (AAox) altas

(≈90% y 22.05 ± 1.5 mmol ET/ 100 g de microencapsulados de astaxantina optimizados, respectivamente).

5) Los MAO presentaron una morfología predominantemente esférica, con un rango de tamaño de partícula de aproximadamente 1 a 14 μm , sin grietas, ni fisuras aparentes. En los MAO se observaron depresiones superficiales asociadas con partículas huecas o porosas con bajos valores (pobres valores) de densidad aparente y densidad compactada (0.23 y 0.63 g/mL, respectivamente). Los MAO presentaron pobres propiedades de flujo (alta cohesividad y poca fluidez) debido al tamaño pequeño de las microcápsulas.

6) Se desarrollaron tres modelos de bebidas funcionales adicionadas con MAO: Bebida 1 (B1) = bebida a base de concentrado de proteína de amaranto obtenido por extracción alcalina y precipitación ácida; Bebida 2 (B2): bebida a base de leche de amaranto obtenida por extracción acuosa; Bebida 3 (B3) = bebida a base de jugo de limón y pulpa de fresa (tipo limonada). En la formulación de las bebidas se utilizaron estevia, pectina y ácido cítrico como edulcorante, estabilizante y acidulante, respectivamente.

7) La bebida 3 (limonada) presentó mayor actividad antioxidante que las bebidas elaboradas a base de amaranto (B1 y B2) (1150.13 vs 703.88-783.3 μmoles ET/ 200 mL), y la adición de 1% (p/p) de MAO a las bebidas incrementó (+82-126%) significativamente su actividad antioxidante.

8) Las bebidas adicionadas con MAO, de acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial, presentaron buena aceptabilidad global (AG). La bebida B1 presentó la AG más alta y se ubicó en una escala sensorial afectiva (escala hedónica de 11 puntos) entre los descriptores “me gusta moderadamente” y “me gusta mucho”, seguida de la bebida B3 la cual presentó una AG similar a una bebida comercial a base de extracto de soya y jugo de frutas (B4), y las cuales se ubicaron entre los descriptores “me gusta ligeramente” y “me gusta moderadamente”; mientras que, la bebida B2 presentó valores de AG menores y se ubicó entre “ni me gusta, ni me disgusta” y “me gusta ligeramente” en la escala hedónica de 11 puntos.

9) La microencapsulación mediante secado por aspersion, puede ser utilizada como una vía de incorporación de compuestos bioactivos liposolubles en matrices alimentarias acuosas, para el desarrollo de productos funcionales con potencial para la promoción de la salud de los consumidores.

X. BIBLIOGRAFIA.

- ADA. 2009. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*. 109:735-746.
- AOAC. 2012. Official methods of analysis of AOAC. 19^a ed. Washington, DC: AOAC International. 1500p.
- Ahmed M, Akte MS, Lee JC, Eun JB. 2010. Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*. 43(9):1307-1312
- Ambati RR, Phang SM, Ravi S, Aswathanarayana RG. 2014. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications - a review. *Mar Drugs*. 12:128-52. [doi: 10.3390/md12010128].
- Anandharamakrishnan C, Padma S. 2015. *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. Chicago IL: John Wiley & Sons, Ltd. 312 p.
- Anarjan N, Tan CP. 2013. Chemical stability of astaxanthin nanodispersions in orange juice and skimmed milk as model food systems. *Food Chemistry*. 139: 527-531.
- Bacio-Parra LV. 2007. Optimización multi-objetivo en el problema de metodología de superficie multi-respuesta [Tesis de maestría]. Guanajuato, México: Centro de Investigación en Matemáticas A. C. 149 p.
- Badui D. 2006. *Química de los Alimentos*. 4^a ed. México, DF: Pearson editores. 716 p.

- Barrera-Cruz A, Rodríguez-González A, Molina-Ayala MA. 2013. Escenario actual de la obesidad en México. *Revista Médica Instituto Mexicano del Seguro Social*. 51(3):292-299.
- Bayr H. 2005. Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*. 33(12):S498-S501.
- Becker R, Wheeler EL, Lorenz K, Stafford AE, Grosjean OK, Betschart AA, Saunders RM. 1981. A compositional study of amaranth grain. *Journal of Food Science*. 46:1175-1180.
- Becker R. 1989. Preparation, composition, and nutritional implications of amaranth seed oil. *Cereal Foods World*. 34:950-953.
- Beckman JS, Ye YZ, Anderson P, Chen J, Accavetti MA, Tarpey MM, White CR. 1994. Extensive nitration of protein tyrosines in human atherosclerosis detected by immunohistochemistry. *Biological Chemistry Hoppe Seyler*. 375:81-88.
- Berger A, Monnard I, Dionis F, Gummy D, Hayes KC, Lambelet P. 2003. Cholesterol lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. *Food Chemistry*. 81:119–124.
- Bustos-Garza C, Yañez-Fernández J, Barragán-Huerta BE. 2013. Thermal and pH stability of spray-dried encapsulated astaxanthin oleoresin from *Haematococcus pluvialis* using several encapsulation wall materials. *Research Food International*. 54:641-649.
- Calvo C. 1999. Uso de los colorantes en el campo de la alimentación. *Alimentos, Equipos y Tecnología*. 3: 79-88.
- Calvo-Carrillo MC, Carranco-Jáuregui ME, Luna-Ocampo RM. 2006. Elaboración de una bebida con alto contenido de carotenoides. *Bebidas Mexicanas*. 1:9-17

- Capelli B. 2007. Astaxantina natural: La reina de los carotenoides. Kailua-Kona: Cyanotech Corporation. 148 p.
- Cardello AV, Schutz HG. 2004. Research note numerical scale-point locations for constructing the LAM (Labeled Affective Magnitude) scale. *Journal of Sensory Studies*. 19:341-346.
- Carneiro H, Tonon R, Grosso C, Hubinger M. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*. 115(4): 443-451.
- Carpio-Escobar JMS. 2009. Estudio de factibilidad técnica para la producción de harina de amaranto [Tesis de licenciatura]. San Salvador: Universidad de El Salvador. 98 p.
- Carrasco F, Galgani JE, Reyes M. 2013. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. *Revista Medicina Clínica Las Condes*. 24(5):827-837.
- Carrillo-Martínez GG. 2017. Formulación de una bebida elaborada a base de ciruela (*Spondias purpurea L.*) y evaluación de su actividad nutraceútica [Tesis de maestría]. Yautepec, Morelos: Instituto Politécnico Nacional. 79p.
- Castel MV. 2010. Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto [Tesis de maestría]. Santa Fe, Argentina: Universidad Nacional del Litoral. 152 p.
- Cerezal-Mezquita P, Acosta-Barrientos E, Rojas-Valdivia G, Romero-Palacios N, Arcos-Zavala R. 2012. Desarrollo de una bebida de alto contenido proteico a partir de algarrobo, lupino y quinoa para la dieta de preescolares. *Nutrición Hospitalaria*. 27(1):232-243.

- Cerezal-Mezquita P, Barragán-Huerta BE, Palma-Ramírez J, Ortiz-Hinojosa C. 2013. Milks pigmentation with astaxanthin and determination of color stability during short period cold storage. *Journal of Food Science and Technology*. 52(3):1634-1641
- Chen X, Chen R, Guo Z, Li C, Li P. 2007. The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β -cyclodextrin. *Food Chemistry*. 101(4):1580-1584.
- Choi HD, Kim JH, Chang MJ, Kyu-Youn Y, Shin WG. 2011. Effects of astaxanthin on oxidative stress in overweight and obese adults. *Phytotherapy Research*. 25:1813-1818.
- Cofrades S. 2013. Design of healthier foods and beverages containing whole algae. En: Dominguez H. editor. *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals*. 19^a ed. New York: Elsevier 633 p.
- Comhaire FH, Garem YE, Mahmoud A, Eertmans F, Schoonjans F. 2005. Combined convectional/antioxidant "Astaxanthin" treatment for male infertility: a double blind, randomized trial. *Asian Journal of Andrology*. 7(2): 57-62
- Corrêa N, Da Silva-Macedo C, Moraes J, Teixeira-Machado N, Ferreira- de França L. 2012. Characteristics of the extract of *Litopenaeus vannamei* shrimp obtained from cephalothorax using pressurized CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*. 66:176-180.
- Crujeiras AB, Parra D, Goyenechea E, Martínez JA. 2008. Sirtuin gene expression in human mononuclear cells is modulated by caloric restriction. *European Journal of Clinical Investigation* [serie en linea]. 38(9):672-678. Disponible en [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.01998.x>].

- De la Fuente J., Oyarzún B. 2006. Solubility of carotenoid pigments (lycopene and astaxanthin) in supercritical carbon dioxide. *Fluid Phase Equilibria*. 247(1-2): 90-95.
- Delgado-Vargas F, Jimenez AR, Paredes-López O. 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins and Betalains-Characteristics, Byosynthesis, Processing and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [serie en línea]. 40(3):173-289. Disponible en [DOI:10.1080/10408690091189257].
- Desai K y Park H. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*. 23(7):1361-1394.
- Escudero NL, Arellano ML, Luco JM, Gimenez M, Mucciarelli SI. 2004. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranth cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Food for Human Nutrition*. 59:15-21.
- Esquivel-González BE, Ochoa-Martínez LA, Rutiaga-Quiñones OM. 2015. Microencapsulación mediante secado por aspersion de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 16(2):180-192.
- Fang Z , Bhandari B. 2010. Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*. 21(10):510-523.
- Fennema O.R. 1995. *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia. 1258 p.
- Fernandes RV, Borges SV, Botrel DA. 2013. Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated Rosemary essential oil properties. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 33(1):171-178.

- Fernández-Herrera F. 2018. Formulación de una bebida funcional a base de *Beta vulgaris L.* y *Equisetum arvense L.* para su evaluación de la capacidad antioxidante y polifenoles totales [Tesis de doctorado]. Huacho, Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. 72 p.
- FID. 2015. Atlas de la diabetes de la Federación Internacional de Diabetes (FID). 7^a ed. Ginebra: FID. 136 p.
- Finney J, Buffo R, Reineccius GA. 2002. Effects of Type of Atomization and Processing Temperatures on the Physical Properties and Stability of Spray-Dried Flavors. *Journal of Food Science*. 67(3): 1108-1114.
- Filkova I, Huang LX, Mujumdar AS. 2006. Industrial Spray Drying Systems. En Mujumdar AS editor. *Handbook of Industrial Drying*. 3^a ed. Florida: CRC Press. p 215-256.
- Flores-Belmont IA, Jiménez-Munguía MT. 2013. Microencapsulación de compuestos bioactivos con quitosano. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 7(1):48-56.
- Franco YL, Goycoolea FM, Valdez MA, De la Barca AC. 2006. Goma de mezquite: Una alternativa de uso industrial. *Ciencia y Tecnología de América*. 31(3):183-189.
- Franco-Zavaleta ME. 2010. Extracción de astaxantina a partir de residuos de camarón ensilados por métodos ácido y bacteriano [Tesis de doctorado]. México, DF: Universidad Autónoma Metropolitana. 210 p.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makisima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in

- obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinic Investigation*. 114:1752-1761.
- Galgani JE, Ravussin E. 2012. Postprandial whole-body glycolysis is similar in insulin-resistant and insulin-sensitive non-diabetic humans. *Diabetologia* 55:737-742.
- Gamboa-Gómez CI. 2014. Efecto del consumo de bebidas funcionales (infusiones) utilizadas en México como alternativa para el control de obesidad y sus complicaciones [Tesis de doctorado]. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro. 124 p.
- García-Cruz H, Retana-Tobias GI. 2007. Elaboración de bebidas no convencionales [Proyecto de Investigación de licenciatura]. México, DF: Instituto Politécnico Nacional. 65 p.
- García-Gutiérrez C, González-Maldonado MB, Ochoa-Martínez LA, Medrano-Roldán H. 2004. Microencapsulación de jugo de cebada verde mediante secado por aspersión. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 4(4):262-266.
- Gavilán-Bravo A. 2017. Consideraciones para el uso de los carotenoides en los alimentos funcionales. En Melendez-Martinez coordinador. *Carotenoides en agroalimentación y salud*. 1ª ed. México: Editorial Terracota. p 670-686.
- Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*. 40(9):1107-1121.
- Gomez-Estaca J, Comunian TA, Montero P, Ferro-Furtado R, Favaro-Trindade CS. 2016. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp

- waste by complex coacervation using a novel gelatin–cashew gum complex. *Food Hydrocolloids*. 61:155-162.
- Goodwin TW. 1980. *Biochemistry of the Carotenoids*. Vol. 1: Plants. 2^a ed. New York: Chapman and Hall. 95 p.
- Guerin M, Huntley ME, Olaizola M. 2003. Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnology*. 21:210–216.
- Guerrero-Legarreta I, López-Hernandez E, Armenta-López R. 2006. Pigmentos. En: Badui S, editor. *Química de los Alimentos*. 4^a ed. Mexico, D.F.: Pearson Editorial. p 401-439.
- Haoneng T, Lingli T. 2010. Obesity and metabolic syndrome. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*. 5:10-20.
- He HP, Corke H. 2003. Oil and squalene in amaranthus grain and leaf. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:3009-3015.
- Herrero A, Guardia J. 1992. *Conservación de frutos*. Manual técnico. Madrid, España: Editorial Mundi. 409 p.
- Higuera-Ciapara I, Felix-Valenzuela L, Goycoolea FM, Argüelles-Monal W. 2004. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. *Carbohydrate Polymers*. 56:41–45.
- Higuera-Ciapara I, Felix-Valenzuela L, Goycoolea FM. 2006. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. *Food Science Nutrition*. 46:185–196.
- Hogan SA, Mcnamee BF, O’Riordan ED, O’Sullivan M. 2001. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*. 11(3): 137–144.

- INSP, INEGI. 2019. Resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018. México: INSP. Disponible de: www.ensanut.insp.mx. Consultado el 10 de enero de 2020.
- Islam M, Kitamura Y, Kokawa M, Monalisa K, Tsai F, Miyamura S. 2017. Effects of micro wet milling and vacuum spray drying on the physicochemical and antioxidant properties of orange (*Citrus Unshiu*) juice with pulp powder. *Food and Bioproducts Processing*. 101:132–144.
- Iwamoto T, Hosada K, Hirano R, Kurata H, Matsumoto A, Miki W, Kamiyama M, Itakura H, Yamamoto S, Kondo K. 2000. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by astaxanthin. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 7:216-222.
- Jafari SM, Assadpoor E, Bhandari B, He Y. 2008. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International* 41:172–183.
- Jinapong N, Suphantharika M, Jamnong P. 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*. 84(2): 194-205.
- Juan R, Pastor J, Alaiz M, Megías C y Vioque J. 2007. Caracterización proteica de las semillas de once especies de amaranto. *Grasas y Aceites*. 58:49-55.
- Jyothi NV, Prasanna M, Sakarkar NS, Prabha S, Ramaiah S, Srawan Y. 2010. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*. 27(3):187-197.
- Karppi J, Rissanen TH, Nyysönen K, Kaikkonen J, Olsson AG, Voutilainen S, Salonen JT. 2007. Effect of astaxanthin supplementation on lipid peroxidation. *International Journal for Vitamin and Nutritional Research*. 77:3-11.

- Khan MA, Tania M, Zhang DZ, Chen HC. 2010. Antioxidant enzymes and cancer. Chinese Journal of Cancer Research. 22(2):87-92.
- Krinsky N, Johnson E. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. Molecular Aspects of Medicine. 26(6):459-516.
- Krishnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R. 2012. Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. Chemical Engineering Research and Design. 90(5): 622-632.
- Kittikaiwan P, Powthongsook S, Pavasant p, Shotipruk Artiwan. 2007. Encapsulation of *Haematococcus pluvialis* using chitosan for astaxanthin stability enhancement. Carbohydrate polymers. 70:378-385.
- Kupcinskas L, Lafolie P, Lignell A, Kiudelis G, Jonatis L, Adamonis K. 2008. Efficacy of the natural antioxidant astaxanthin in the treatment of functional dyspepsia dyspepsia in patients with or without *Helicobacter pylori* infection: a prospective, randomized, double blind, and placebo-controlled study. Phytomedicine. 15: 391-399.
- Kuskoski EM, Asueroro AG, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC, Fett R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 24(4):691-693.
- Leal M. 2016. Estudio Panorámico de Vigilancia Tecnológica e Inteligencia Competitiva. Alimentos Funcionales. 1^a ed. Buenos Aires: Ministerio de Ciencia y Tecnología e Innovación Productiva. 306 p.

- Lee JS, Park SA, Chung D, Lee HG. 2011. Encapsulation of astaxanthin-rich Xanthophyllomyces dendrorhous for antioxidant delivery. International Journal of Biological Macromolecules. 49:268-273.
- Leyva-Lopez N, Vasco N, Barba de la Rosa A, Paredes-Lopez O. 1995. Amaranth seed proteins: Effect of defatting on extraction yield and on electrophoretic patterns. Plant Foods for Human Nutrition 47:49-53.
- López-Roldan P, Mach N. 2012. Efecto del consumo de astaxantina en la salud. Revista Española Nutrición Comunitaria. 18(3):164-177.
- Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S. 2006. Flavour encapsulation and controlled release – a review. International Journal of Food Science and Technology. 41(1):1-21.
- Marín R, Gorostidi M, Pobes A. 2002. Hipertensión arterial y enfermedad vascular renal: nefroangioesclerosis. Nefrología. 22:36-45.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. 2003. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: A review. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 17:24-38.
- Martínez-Silva AS. 2010. Evaluación del crecimiento celular y los pigmentos obtenidos de la microalga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyta: Volvocales) cultivada en diferentes medios [Tesis de doctorado]. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional. 103 p.
- Martins IM, Barreiro MF, Coelho M, Rodríguez AE. 2014. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. Chemical Engineering Journal. 245:191- 200.

- Martirosyan DM, Miroshnichenko LA, Kulakova SN. 2007. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. *Lipids Research and Disease*. 6:1-12.
- Masters K. 1979. *Spray Drying Handbook*. 3^a ed. Great Britain: The Pitman Press. 685 p.
- Matsushita Y, Suzuki R, Nara E, Yokoyama A, Miyashita K. 2008. Antioxidant activity of polar carotenoids including astaxanthin-B-glucoside from marine bacterium on PC liposomes. *Fisheries Science*. 66:980-985.
- Mayo Clinic. 2018. *Arteriosclerosis/Atherosclerosis*. Minnesota: Mayo Clinic. Disponible de: www.mayoclinic.org. Consultado el 18 de abril de 2018.
- McNamee B, Dolores E, O'Sullivan M. 2001. Effect of partial replacement of gum arabic with carbohydrates on its microencapsulation properties. *Journal of Agriculture Food Chemical*. 49:3385-3388.
- Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredi FJ. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54(2):209-215.
- Meléndez A, Britton G, Vicario I, Heredia F. 2006. Relationship between the color and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chemistry*. 101:1145–1150.
- Meléndez-Martínez AJ. 2017. *Carotenoides en agroalimentación y salud*. 1^a ed. México: Editorial Terracota. 704 p.
- Meyers S, Bligh D. 1981. Characterization of astaxanthin pigments from heat-processed crawfish waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29(3): 505-508.

- McGarry JD. 1992. An alternative angle on diabetes. *Science*. 258:766-770.
- Miki W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*. 63: 141-146.
- Montero P, Calvo MM, Gómez-Guillén MC, Gómez-Estaca J. 2016. Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. *LWT-Food Science and Technology*. 70: 229-236.
- Mordi RC, Walton JC, Burton GW, Hughes L, Ingold KU, Lyndsday DA, Moffatt DJ. 1993. Oxidative degradation of β -carotene and β -apo-8'-carotenal. *Tetrahedron Letters*. 49: 911-928.
- Mun S, Decker EA, McClements DJ. 2007. Influence of emulsifier type on in vitro digestibility of lipids droplets by pancreatic lipase. *Food Research International*. 40:770-781.
- Muntaner JA, Luciardi HL, Altmar R. 1999. Atherosclerosis: ¿Por qué una enfermedad inflamatoria? Parte 1. Fundamentos, marcadores, biología molecular. *Revista de la Federación Argentina de Cardiología*. 28:201-216.
- Murugesan R, Orsat V. 2012. Spray drying for the production of nutraceutical ingredients: A review. *Food and Bioprocess Technology*. 5(1): 3-14.
- Myers RH. 1971. *Response Surface Methodology*. Boston, USA: Allyn and Bacon. 246 p.
- Nagaki Y, Mihara M, Tsukahara H, Ono S. 2006. The supplementation effect of astaxanthin on accommodation and asthenopia. *Clinical Therapeutics*. 22:41-54

- Nageswara R, Naseeruddin A, Nageswara B. 2005. Preparative isolation and characterization of some minor impurities of astaxanthin by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1076:189-192.
- National Academy of Science. 1984. *Amaranth: modern prospects for an ancient crop*. Washington, DC: Ed. National Academy Press. 80 p.
- Nava-Reyna E, Michelena-Álvarez G, Iliina A, Martínez-Hernández JL. 2015. Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia* 23(66) :64-70.
- Nesterenko A, Alric I, Silvestre F, Durrieu V. 2013. Vegetable proteins I microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*. 42:469-479.
- Nielsen S. 2010. *Food Analysis*. 4^a ed. New York: Springer. 602 p.
- OMS. 2000. *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic*. Ginebra: World Health Organization. 253 p.
- Orci L. 1985. The insulin factory: a tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line. *Diabetologia*. 28:528-546.
- Palmetti N. 2010. *Nutrición depurativa. Manual de comida viva*. 1^a ed. Córdoba: el autor. 500 p
- Palozza P, Krinsky NI. 1992. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: An overview. *Methods in Enzymology*. 213: 403-420.
- Paredes-López O, Hernández-López D. 1992. Food properties of amaranth seeds and methods for starch isolation and characterization. En: Linskens H, Jackson J, editores. *Seed Analysis. Modern Methods of Plant Analysis*. Vol 14. Berlin: Springer-Verlag. p 217-239.

- Park JS, Chyun JH, Kim YK, Line LL, Chew BP. 2010. Asthaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition and Metabolism*. 7:18.
- Parra-Huertas RA. 2010. Revisión: microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*. 63(2): 5669-5684.
- Pashkow FJ, Watumull DG, Campbell CL. 2008. Astaxanthin: A novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease. *American Journal Cardiology*. 101:58D–68D.
- Pedroza R, Cruz L, Ricque D, Tapia M, Gaxiola M, Simoes N. 2002. Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. *Avances en Nutrición Acuícola. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 3 al 6 de septiembre de 2002. Cancún, Quintana Roo, México. p 438-447.
- Piermarocchi S, Sartore M, Monterosso G. 2011. The prevalence of age-related macular degeneration in Italy study: report 1. *Ophthalmic Epidemiology*. 18(3):129-136.
- Plate A, Areas J. 2002. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus L.*) in hypercholesterolemic rabbits. *Food Chemistry*. 76:1–6.
- Polanco-Murrieta AI. 2017. Extracción, modificación y caracterización de proteínas de amaranto [Tesis de Maestría]. Xalapa, Veracruz: Universidad Veracruzana. 115 p.

- Pryor W, Shipley-Godber S. 1991. Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. *Free radical Biology and Medicine*. 10:177-184.
- Ramírez-López G. 2008. Expresión analítica de los componentes de los alimentos. Antioquia, Colombia: Universidad de Antioquía. Disponible de: www.aprendeenlinea.udea.edu.co. Consultado el 30 de junio de 2019.
- Ramírez-Londoño MJ. 2013. Evaluación de variables de un proceso de microencapsulación para la estabilización de polifenoles. [Tesis de maestría]. Manizales, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 80 p.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26: 1231-1237.
- Rivera JA, Muñoz-Hernández O, Rosas-Peralta M, Aguilar-Salinas CA, Popkin BM, Willett WC. 2008. Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Medigraphic Artemisa* [en línea]. 65:208-237. Publicado en Mayo-Junio de 2008.
- Rodríguez-Amaya D. 1997. Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods. Campinas, Brasil: OMNI Project. 93 p.
- Rodríguez-Huezo ME. 2005. Microencapsulación por secado por aspersion de emulsiones múltiples W/O/W conteniendo carotenoides [Tesis de doctorado]. México, DF: Universidad Autónoma Metropolitana. 127 p.
- Ruiz-Canizales J. 2015. Microencapsulación de polifenoles de maíz Híbrido azul y su liberación en un modelo de digestión in vitro [Tesis de maestría]. Culiacán, Sinaloa: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. 65 p.

- Sáenz C, Tapia S, Chávez J, Robert P. 2009. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). Food Chemistry. 114:616-622.
- Sandoval-Peraza VM, Cu-Cañetas T, Peraza-Mercado G, Acereto-Escoffíé POM. 2016. Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. En: Ramírez-Ortiz ME, editor. Alimentos Funcionales de Hoy. Barcelona, España: OmniaScience. p 181-218.
- Sansone F, Mencherini T, Picerno P, D'Amore M, Aquino RP, Lauro MR. 2011. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. Journal of Food Engineering. 105(3):468-476.
- Saran M, Michel C, Bors W. 1990. Reaction of NO with O_2^- . Implications for the action of endothelium-derived relaxing factor (EDRF). Free Radical Research Communications. 10:221-226.
- Sauer J. 1967. The grain amaranths and their relatives: A revised taxonomic and geographic survey. Annals of the Missouri Botanical Garden. 54:103-137.
- Saunders RM y Becker R. 1984. Amaranthus: a potential food and feed resource. En: Pomeranz, Y. editor. Advances in Cereal Science and Technology, Vol VI. American Association of Cereal Chemists Inc. St Paul. p. 357-396.
- Schoenlechner R, Drausinger J, Ottenschlaeger V, Jurackova K, Berghofer E. 2010. Functional properties of gluten-free pasta produced from amaranth, quinoa and buckwheat. Plant Foods for Human Nutrition 65:339-349.
- Scilingo AA, Ortiz SE, Martinez ES, Añón MC. 2002. Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. Food Research International 35:855-862.

- Shah D, Shah Y, Pradhan R. 1997. Development and evaluation of controlled-release diltiazem HCl microparticles using cross-linked poly (vinyl alcohol). *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 23(6):567-574
- Shen Q, Quek SY. 2014. Microencapsulation of astaxanthin with blends of milk protein and fiber by spray drying. *Journal of Food Engineering*. 123:165-171.
- Shen X, Zhao C, Lu J, Guo M. 2018. Physicochemical Properties of Whey-Protein-Stabilized Astaxanthin Nanodispersion and Its Transport via a Caco-2 Monolayer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66:1472-1478.
- Sheu TY, Rosenberg M. 1995. Microencapsulation by spray-drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. *Journal of Food Science*. 60(1): 98–103.
- Shua G, Klalidb N, Chena Z, Nevesa MA, Barrowb CJ. 2018. Formulation and characterization of astaxanthin-enriched nanoemulsions stabilized using ginseng saponins as natural emulsifiers. *Food Chemistry*. 255:67-74.
- Soriano-García M, inventor; Gastronomía Molecular S. A., cesionario. 15 de mayo de 2008. Nuevo proceso de elaboración y estabilización de un producto nutritivo de amaranto. México. Patente 2008/056967.
- Soteras E. 2011. Obtención y formulación de una bebida en base de granos de amaranto [Tesis de maestría]. Santa Fe, Argentina: Universidad Nacional del Litoral. 116 p.
- Souza AS, Borges SV, Magalhães NF, Ricardo HV, Cereda MP, Dajuto ER. 2009. Influence of spray drying conditions on the physical properties of dried pulp tomato. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 29(2):291-294.

- Secretaría de Salud. 2013. Estrategia Nacional para la prevención y el control de sobrepeso, la obesidad y la diabetes. 1ra. edición. México, DF: IEPSA. 103 p.
- Suganya V, Asheeba ST. 2015. Microencapsulation of astaxanthin using ionotropic gelation method isolated from three crab varieties. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 7:96–99.
- Tachaprutinum A, Udomsup T, Luadthong C, Wanichwecharungruang. 2009. Preventing thermal degradation of astaxanthin through nanoencapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 374:119-124.
- Takenaka H, Kawashima Y, Lin SY. 1980. Micrometric properties of sulfamethoxazole microcapsules prepared by gelatin-acacia coacervation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [serie en línea]. 69(5):513-516. Disponible en [<https://doi.org/10.1002/jps.2600690509>].
- Tamjidi F, Shahedi M, Varshosaz J, Nasirpour A. 2017. Stability of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers in beverage systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98:511-518.
- Uchiyama A, Okada Y. 2008. Clinical efficacy of astaxanthin-containing *Haematococcus pluvialis* extract for the volunteers at risk metabolic syndrome. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 43(1):38-43.
- USDA. 2019. FoodData Central. Agricultural Research Service. Disponible de: www.fdc.nal.usda.gov. Consultado el 24 de agosto de 2019.
- Vilar-Rojas C, Guzman-Grenfell AM, Hicks JJ. 1996. Participation of oxygen free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Archives of Medical Research*. 27(1):1.

- Villalobos-Castillejos F, Cerezal-Mezquita P, Hernández-de Jesús ML, Barragán-Huerta BE. 2013. Production and stability of water-dispersible astaxanthin oleoresin from *phaffia rhodozyma*. International Journal of Food Science and Technology. 48:1243-1251.
- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 44(4):275-295.
- Yoshida H, Yanai H, Ito K, Tomono Y, Koikeda T, Tsukahara, Tada N. 2010. Administration of natural astaxanthin increases serum HDL-cholesterol and adiponectin in subjects with mild hyperlipidemia. Atherosclerosis 209: 520-523.
- Yuan C, Jin Z, Xu X, Zhuang H, Shen W. 2008. Preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Food Chemistry. 109(2):264-268.
- Zhang X, Yin W, Qi Y, Li X, Zhang W, He G. 2017. Microencapsulation of Astaxanthin in Alginate Using Modified Emulsion Technology: Preparation, Characterization, and Cytostatic Activity. The Canadian Journal of Chemical Engineering. 95:412-419.
- Zugasti-Murillo A, Basilio-Moreno E. 2005. Obesidad, factor de riesgo cardiovascular. Revista Española de Obesidad 3(2):89-94.

ABREVIATURAS

ADA	Asociación Dietaria Americana (del inglés, American Dietetic Association)
AOAC	Asociación Oficial de Químicos Analíticos (del inglés, Association of Official Analytical Chemist)
ATRA	Ácido retinoico All-trans
BC	Beta caroteno
CMC	Carboxi metil celulosa de sodio
CAT	Catalasa
ED	Equivalente de Dextrosa (del inglés Dextrose Equivalent)
ECNT	Enfermedades Crónicas no Transmisibles
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (del inglés, European Food Safety Authority.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ET	Equivalentes de Trolox
EUA	Estados Unidos de América
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (del inglés, Food and Drug Administration)
GA	Goma arábica
GPx	Glutación peróxidasa
GR	Glutación reductasa
GST	Glutación-S-transferasa
OMS	Organización mundial de la Salud
FID	Federación Internacional de la Diabetes
IMC	Índice de masa corporal
LAM	Magnitud afectiva etiquetada (del inglés, Labeled Affective Magnitude)
MEB	Microscopio electrónico de barrido
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reducido
PPAR _γ	Receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas

RI	Resistencia a la insulina
ROS	Especies reactivas del oxígeno (del inglés, Reactive Oxygen Species)
RSM	Metodología de superficie de respuesta (del inglés, Response Surface Methodology)
TBARS	Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (del inglés, Thiobarbituric Acid Reactive Substances)
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (del inglés, United States Department of Agriculture)
WPI	Aislado de Proteína de Suero (del inglés, Whey Protein Isolate)

ANEXOS

A. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HARINA DE AMARANTO

Procedimiento

Para la obtención de harina de amaranto se partió del grano de amaranto, siguiendo los pasos que se enumeran a continuación:

1.- **Limpieza y Lavado:** Se utilizaron coladores para cernir, con la finalidad de eliminar todas las impurezas y cualquier cuerpo extraño que pudiera existir en la materia prima. Posteriormente se lavó con solución de bicarbonato de sodio al 5% p/v, removiendo continuamente durante 3 minutos, para eliminar la astringencia de la semilla. A continuación, se enjuagó con agua y se coloca en lienzos de tela para dejar secar (24 h, 25 °C) bajo una corriente de aire creada por un ventilador de mesa.

2.- **Molienda:** Una vez seco el grano, se procedió a moler la materia prima, utilizando un molino de martillo (Perten, LM 3100, Suiza) con el objeto de triturar y obtener la harina.

3.- **Tamizado:** El proceso de tamizado se llevó a cabo para uniformar el tamaño de la partícula en las harinas y así poder homogenizar la granulometría, a un tamaño de partículas en el que el 100% de la harina pasa malla #40 (420 micras).

4.- **Empacado:** La harina se empacó en bolsas de polietileno, las cuales se almacenaron en refrigeración (4-8°C) hasta su respectivo uso (Carpio-Escobar 2009).

B. PROCESO DE DESENGRASADO DE LA HARINA DE AMARANTO

Procedimiento

Para el desengrasado de la harina de amaranto se siguió la metodología descrita por Castel (2010):

- 1.- Se pesaron 100 g de harina de amaranto y agregaron 1000 mL de hexano, con una relación 1:10 p/v
- 2.- La mezcla se agitó por 2 horas
- 3.- Posteriormente se filtró al vacío y se separó: La parte sólida se colocó en una charola de aluminio y se dejó secar durante 24 horas a temperatura ambiente (20 a 25 °C)
- 4.- Mientras que, la parte líquida con la grasa eliminada, se colocó en un matraz balón y se recuperó el solvente en el rotavapor:
 - a. Se encendió el baño de agua y se fijó la temperatura a 60 °C
 - b. se abrió el reflujo de agua del condensador
 - c. Se colocó el matraz balón con la muestra y este se sujetó con la pinza
 - d. El matraz se sumergió en el baño de agua
 - e. Se inició el movimiento al fijar las revoluciones y encender la bomba de vacío
 - f. Se continuó hasta que la evaporación total del hexano, el cual se fue recolectando en el otro matraz
 - g. Se apagó la agitación y se sacó el matraz
 - h. El matraz se dejó secar en la estufa a 75 °C durante 12 h
 - h. Finalmente se pesó el matraz más la grasa
- 5.- La cantidad de grasa eliminada de la harina se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{gramos de grasa eliminada}}{\text{gramos de harina}} \times 100$$

C. PROCESO DE ELABORACIÓN DE LECHE DE AMARANTO

Procedimiento

Para la obtención de la leche de amaranto se partió del grano de amaranto, siguiendo los pasos que se enumeran a continuación:

1.- **Limpieza y Lavado:** Se utilizaron coladores para cernir y aire, con la finalidad de eliminar todas las impurezas y cualquier cuerpo extraño que pudiera existir en la materia prima, sometiendo el grano a una corriente de aire creada por un ventilador de mesa. Posteriormente los granos se pesaron y se colocaron en una solución de bicarbonato de sodio al 5% p/v, removiendo continuamente durante 3 minutos, para eliminar la astringencia de la semilla. Una vez transcurrido el tiempo se escurrieron y enjuagaron con agua para eliminar los residuos de la solución de bicarbonato de sodio.

2.- **Remojo y escurrimiento:** Los granos de amaranto se colocaron en remojo durante 3 horas en agua potable. Posteriormente se drenó el agua de remojo y se agregó agua fresca a las semillas hidratadas en una proporción 1: 6 (p/v).

3.- **Molienda:** La molienda se realizó en una licuadora industrial (CRT Global, BL-767) a velocidad media durante 2 minutos, con el fin de lograr una adecuada molienda y dispersión de los componentes en la fase acuosa.

4.- **Homogeneización y filtración:** Las suspensiones obtenidas fueron tratadas con un turbolicuador moulinex a máxima velocidad durante 2 minutos, con el fin de disminuir el tamaño promedio de partículas y aumentar la mezcla íntima de los componentes. A continuación, el producto homogeneizado se filtró a través de una malla de nylon de 200 μm , grado alimenticio, para separar las partículas de mayor tamaño.

5.- **Tratamiento térmico:** El tratamiento térmico se realizó con varios fines: a) pasteurización de la mezcla obtenida, con la lógica disminución de la población de microorganismos patógenos; b) dispersión más efectiva y completa de la fracción proteica y gelatinización del almidón. El mismo se llevó a cabo calentando la muestra en un baño termostático a 80 ° C y manteniendo esta temperatura por 30 minutos. Finalmente, la muestra se enfrió en un baño con hielo durante 15 minutos (Carpio-Escobar 2009; Soteras 2011).