

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

Evaluación de diferentes concentraciones de materiales de pared para la microencapsulación de polifenoles extraídos de cáscara de cacao

Erika Johana Sogamoso González y Yaiza Vanessa Moscote Chinchilla

Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniero Químico

Modalidad: Trabajo de Investigación

Director

Luis Javier López Giraldo

Doctor en Química, Bioquímica y Ciencia de Alimentos

Codirectora

Astrid Natalia González Morales

Ingeniera Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2024

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES****Dedicatoria**

*Para la familia: mi padre, mi colega ingeniero, madre, hermana y abuelas, por su cariño, su apoyo y por ser siempre mi fuente de inspiración. Esta investigación es para ustedes.*

- Yaiza Moscote.

*Dedico este trabajo de investigación a mis padres, por su amor incondicional, su apoyo y sacrificio a lo largo de mi carrera. Sin ustedes, este logro no sería posible.*

- Erika Sogamoso.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

### Agradecimientos

Yaiza Moscote.

La realización de esta investigación fue posible gracias al valioso apoyo de diversas personas e instituciones, quienes contribuyeron de manera significativa a mi desarrollo como profesional.

En primera instancia, agradecer a mi familia tanto nuclear como extensa, por enseñarme que con esfuerzo siempre se logran las metas, su constante aliento en toda esta trayectoria universitaria, su cariño, confianza en mis capacidades, por siempre ser ese pilar de apoyo y mi ejemplo por seguir.

A mis grandes amigos: Jesús, Luisa, Daniela, Erika, José David, Mayra, María Andrea, María Camila y Nicolás, gracias por las conversaciones interminables, risas compartidas, por recargarme de energía, por su paciencia, el impulso e inspiración en cada paso de este camino haciéndolo una experiencia inolvidable.

A los profesores y tutores que contribuyeron constantemente, compartieron conocimientos y por ofrecer varios consejos, que aportaron de manera significativa a mi crecimiento profesional

Al doctor Luis Javier López, por su invaluable apoyo y orientación a lo largo de esta investigación, por brindarnos tanto su conocimiento, como tiempo, experiencia y orientación. También, brindar agradecimiento a Natalia González la codirectora, en especial, resaltar las sugerencias, compromiso y la contribución, que han enriquecido enormemente este proyecto.

Al grupo de investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA) por su generosidad, colaboración, espíritu de trabajo en equipo e indagación que vive en el laboratorio del Parque Tecnológico Guatiguará.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

Erika Sogamoso.

Agradezco a mis padres y a mi hermana, quienes son el motivo por el que emprendí este camino. A la distancia siempre me dieron ese apoyo, comprensión y ánimo en los momentos difíciles a lo largo de estos años; sin sus enseñanzas, ejemplo y sacrificio, no sería la persona que soy y la gran profesional que seré.

A mis compañeros y amigos: Emanuel, Jesús, Yaiza, María Andrea, Nicolas, Santiago y Gisel, que estuvieron a mi lado contagiándome de su alegría y disciplina, dando consejos y motivación para ser cada día mejor, gracias a ustedes mi recorrido por la universidad fue más agradable y bastante memorable.

A mi pareja, que llegó al final de esta trayectoria a iluminar mis días y ser un apoyo incondicional tras las largas jornadas, me recordó la importancia de amar, soñar y disfrutar cada momento.

A los docentes y tutores, que con sus lecciones enriquecieron mis conocimientos para poder tener una base y a partir de allí, ser una mejor profesional.

A mi director, Luis Javier López, y especialmente a mi codirectora, Natalia González, por el acompañamiento brindado; con su paciencia, apoyo, experiencia y conocimientos fue posible el desarrollo de este proyecto, se convirtieron en un ejemplo profesional a seguir. Finalmente, al grupo de investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA y a los profesionales que hacen parte de este, por la guía ofrecida y la motivación dada.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### Tabla de contenido

|  | Pág. |
|--|------|
| Introducción .....   | 13   |
| 1. Objetivos .....   | 15   |
| 1.1 Objetivo general.....  | 15   |
| 1.2 Objetivos específicos .....  | 15   |
| 2. Marco conceptual.....   | 16   |
| 2.1 Antioxidantes .....  | 16   |
| 2.2 Polifenoles .....  | 16   |
| 2.3 Cáscara de la mazorca de cacao.....  | 17   |
| 2.4 Técnicas de encapsulación.....   | 18   |
| 2.4.1 Secado por aspersion .....   | 18   |
| 2.5 Agentes encapsulantes .....  | 19   |
| 2.5.1 Goma Arábica.....  | 19   |
| 2.5.2 Quitosano .....  | 19   |
| 2.5.3 Alginato de sodio.....   | 19   |
| 3. Estado del arte.....  | 20   |
| 4. Metodología .....   | 22   |
| 4.1 Etapa 1: Extracción y caracterización de los polifenoles .....                     | 23   |
| 4.1.1 Extracción de los Polifenoles.....   | 23   |
| 4.1.2 Contenido total de polifenoles método Folin-Ciocalteu .....                      | 24   |
| 4.1.3 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC) .....                                      | 24   |
| 4.1.4 Cuantificación y perfil polifenólico mediante HPLC/UV-Vis y HPLC/MS .....        | 25   |
| 4.2 Etapa 2: Encapsulación de polifenoles y evaluación de variables de respuesta ..... | 26   |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

|   |    |
|---|----|
| 4.2.1 Encapsulación de polifenoles .....  | 26 |
| 4.2.2 Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante de los encapsulados .....          | 27 |
| 4.3 Etapa 3: Diseño experimental y análisis de variables.....                                   | 27 |
| 4.3.1 Evaluación del rendimiento del secado.....  | 28 |
| 4.3.2 Evaluación de la eficiencia de encapsulamiento.....                                       | 29 |
| 4.3.3 Eficiencia de carga.....  | 29 |
| 5. Resultados .....   | 30 |
| 5.1 Extracción y caracterización de polifenoles .....   | 30 |
| 5.1.1 Identificación de los polifenoles con HPLC/MS y cuantificación mediante HPLC/UV-vis       | 32 |
| 5.1.2 Contenido total de polifenoles método Folin-Ciocalteu para el extracto polifenólico ..... | 34 |
| 5.1.3 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC) .....   | 36 |
| 5.2 Encapsulación de polifenoles y evaluación de variables de respuesta .....                   | 37 |
| 5.2.1 Contenido total y superficial de polifenoles en las cápsulas .....                        | 39 |
| 5.2.2 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC) para los encapsulados .....                         | 41 |
| 5.2.3 Identificación y cuantificación de los polifenoles mediante HPLC/UV-Vis.....              | 43 |
| 5.3 Evaluación de la eficiencia y rendimiento de la encapsulación.....                          | 44 |
| 5.3.1 Rendimiento de la operación .....   | 45 |
| 5.3.2 Eficiencia de encapsulamiento .....   | 46 |
| 5.3.3 Eficiencia de carga.....  | 47 |
| 5.4 Selección de la relación EP:AE y encapsulante para maximizar las variables de respuesta ... | 48 |
| 6. Conclusiones .....   | 50 |
| 7. Recomendaciones .....  | 51 |
| Referencias bibliográficas.....   | 52 |
| Apéndices.....  | 63 |

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES****Lista de tablas**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> <i>Diseño experimental para el análisis de las variables.</i> .....                      | 28 |
| <b>Tabla 2.</b> <i>Cantidad de cáscara tratada por lote y extracto de polifenoles obtenidos.</i> .....   | 31 |
| <b>Tabla 3.</b> <i>Perfil de compuestos polifenólicos del extracto de cáscara de cacao CCN-51.</i> ..... | 32 |
| <b>Tabla 4.</b> <i>Contenido polifenólico en lote final del extracto.</i> .....                          | 35 |
| <b>Tabla 5.</b> <i>Capacidad antioxidante en lote final del extracto.</i> .....                          | 36 |
| <b>Tabla 6.</b> <i>Contenido polifenólico total y superficial de los encapsulados.</i> .....             | 39 |
| <b>Tabla 7.</b> <i>Capacidad antioxidante para los encapsulados.</i> .....                               | 41 |
| <b>Tabla 8.</b> <i>Concentración de epicatequina y catequina presentes en los encapsulados.</i> .....    | 43 |
| <b>Tabla 9.</b> <i>Resultados para las variables de rendimiento y eficiencia.</i> .....                  | 44 |

**Lista de figuras**

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> <i>Estructura química de las diferentes categorías de los polifenoles.</i> .....                  | 17 |
| <b>Figura 2.</b> <i>Fases metodológicas de la investigación y variables a estudiar.</i> .....                      | 22 |
| <b>Figura 3.</b> <i>Extractos obtenidos a partir de la cáscara de cacao.</i> .....                                 | 30 |
| <b>Figura 4.</b> <i>Formación de las cápsulas en la cámara de secado.</i> .....                                    | 38 |
| <b>Figura 5.</b> <i>Encapsulados obtenidos para los encapsulantes goma arábica, alginato y quitosano.</i><br>..... | 38 |
| <b>Figura 6.</b> <i>Rendimiento de la operación discriminado por encapsulante y relación EP:AE.</i> .....          | 45 |
| <b>Figura 7.</b> <i>Eficiencia de encapsulamiento discriminado por encapsulante y relación EP:AE.</i> ....         | 46 |
| <b>Figura 8.</b> <i>Eficiencia de carga discriminado por encapsulante y relación EP:AE.</i> .....                  | 47 |
| <b>Figura 9.</b> <i>Contornos para la superficie de respuesta estimada.</i> .....                                  | 49 |

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES****Lista de apéndices**

|                    |   |    |
|--------------------|---|----|
| <i>Apéndice A.</i> | Curva de calibración con ácido gálico .....   | 63 |
| <i>Apéndice B.</i> | Curvas de calibración para epicatequina y catequina. ....   | 63 |
| <i>Apéndice C.</i> | Descripción metodología del HPLC/MS por CROM-MASS.....  | 64 |
| <i>Apéndice D.</i> | Descripción metodología del HPLC/UV-vis .....   | 65 |
| <i>Apéndice E.</i> | Perfil de polifenoles por HPLC/UV-Vis para los extractos.....   | 65 |
| <i>Apéndice F.</i> | Configuraciones estereoquímicas de las catequinas y procianidina B2, con los<br>posibles productos de epimerización. .... | 71 |
| <i>Apéndice G.</i> | Análisis de varianza para el rendimiento de secado. ....  | 72 |
| <i>Apéndice H.</i> | Análisis de varianza para la eficiencia de encapsulación. ....  | 74 |
| <i>Apéndice I.</i> | Análisis de varianza para la eficiencia de carga. ....  | 75 |

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES****Lista de abreviaturas**

**ABC:** Área Bajo la curva de disminución de la fluorescencia de la muestra (blanco y Trolox).

**AE:** Agente Encapsulante.

**A<sub>w</sub>:** Actividad de agua.

**E:** Extracto.

**EE:** Eficiencia de encapsulación.

**EC:** Eficiencia de carga.

**EP:** Extracto polifenólico liofilizado.

**C<sub>tpi</sub>:** Contenido total de polifenoles inicial.

**C<sub>tpf</sub>:** Contenido total de polifenoles interno.

**K:** Factor de dilución de la muestra.

**P:** Presión del aire.

**P<sub>c</sub>:** Peso de las cápsulas.

**P<sub>AE</sub>:** Peso del encapsulante seco.

**P<sub>p</sub>:** Peso de los polifenoles secos.

**C<sub>ps</sub>:** Contenido polifenólico superficial.

**Q<sub>A</sub>:** Caudal del aire.

**Q<sub>E</sub>:** Caudal de alimentación de la emulsión a secar.

**Q<sub>G</sub>:** Caudal del gas de aspersion.

**T<sub>E</sub>:** Temperatura de entrada.

**C<sub>TP</sub>:** Contenido total de polifenoles

**T<sub>s</sub>:** Temperatura de salida.

**R:** Rendimiento.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES****Resumen**

**Título:** Evaluación de diferentes concentraciones de materiales de pared para la microencapsulación de polifenoles extraídos de cáscara de cacao\*

**Autores:** *Erika Johana Sogamoso González, Yaiza Vanessa Moscote Chinchilla\*\**

**Palabras clave:** *Polifenoles, secado por aspersión, antioxidantes, cáscara de cacao.*

**Descripción:** Los polifenoles son compuestos activos con alta capacidad antioxidante que son estudiados por sus beneficios a la salud, estos se encuentran en diversos sistemas biológicos, dentro de los cuales está el cacao, objeto de este estudio, en el que se evaluó la encapsulación de polifenoles extraídos de cáscara de cacao CCN-51 mediante secado por aspersión, a una temperatura de entrada (TE) de 150°C, caudal de gas (QG) de 500 L/h y caudal de aire (QA) de 30 m<sup>3</sup>/h; para tres encapsulantes: Alginato de sodio, goma arábiga y quitosano con diferentes relaciones de extracto de polifenoles y material de recubrimiento. Tanto los extractos como los encapsulados fueron sometidos a pruebas de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), método Folin-Ciocalteu, HPLC/UV-vis y HPLS/MS. Con los resultados se estimó el rendimiento, eficiencia de carga y eficiencia de encapsulación. De forma general, se observó una disminución en la capacidad antioxidante y la cantidad total de polifenoles entre el extracto pre y post encapsulación. El rendimiento osciló entre 45.33% y 63.67%, donde el valor máximo se alcanzó usando la goma arábiga como encapsulante a una relación 1:11, el mismo material de pared logró el mayor valor de la eficiencia de carga de un 34.77%, para una relación 1:3, finalmente la eficiencia de encapsulación alcanzó el mayor valor de 89.46% con alginato de sodio a una relación 1:3 como encapsulante.

---

\*Trabajo de grado

\*\*Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Director Luis Javier López Giraldo. Codirectora Astrid Natalia González Morales.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES****Abstract**

**Title:** Evaluation of different concentrations of wall materials for the microencapsulation of polyphenols extracted from cocoa husk. \*

**Authors:** *Erika Johana Sogamoso González, Yaiza Vanessa Moscote Chinchilla\*\**

**Key words:** *Encapsulant, polyphenols, spray drying, antioxidant, cocoa husk.*

**Description:** Polyphenols are bioactive compounds known for their positive effect on human health due to their high antioxidant capacity. These compounds are present in various species, encompassing cocoa, which is the subject of this study. The cocoa husk polyphenols extracts were encapsulated by spray drying (inlet temperature of 150°C, gas flow rate of 500 L/h and an air flow rate of 30 m<sup>3</sup>/h) using three different encapsulants (sodium alginate, gum Arabic and chitosan). For each encapsulant, different polyphenol extract-to-coating material ratios were applied. Analyses were performed on the polyphenol extracts and encapsulated samples, including Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), the Folin-Ciocalteu method, HPLC/UV-Vis and HPLS/MS. The results were used to estimate the yield, loading efficiency and encapsulation efficiency. In most instances, a decrease in antioxidant capacity and total polyphenol content was observed between the pre- and post-encapsulation extracts. The yield ranged from 45.33% to 63.67%, with the maximum value obtained from the samples in which the gum Arabic was used as encapsulant (ratio 1:11). The same wall material achieved the highest loading efficiency of 34.77%, at a ratio of 1:3. Finally, the encapsulation efficiency reached its highest value of 89.46% with sodium alginate (ratio of 1:3) as the encapsulant.

---

\*Bachelor Thesis

\*\* Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Director Luis Javier López Giraldo. Codirectora Astrid Natalia González Morales.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### Introducción

El cacao (*Theobroma cacao*) es una planta autóctona de centro y Suramérica, a nivel nacional el departamento con la mayor producción es Santander, con una producción en el 2023 de 59831 toneladas lo que representó un 34.43% de la producción nacional (Federación Nacional de Cacaoteros, 2023). Este fruto es un insumo esencial de la producción de chocolate, proceso en el cual se generan múltiples subproductos, siendo la cáscara de cacao uno de los principales, este representa de un 67% al 76% del fruto (Campos-Vega et al., 2018), el aprovechamiento de este residuo es relevante, pues contienen polifenoles los cuales tienen un gran potencial en la industria farmacéutica o alimentaria dadas sus propiedades antioxidantes (Jiménez, 2020).

No obstante, estas características se ven significativamente disminuidas por factores como: exposición a la luz, alta temperatura, humedad entre otras. Con una baja absorción oral y rápida eliminación del cuerpo (Agüera Bolea, 2017). Razón por la cual es pertinente la integración de técnicas de encapsulamiento que permitan la preservación de estos compuestos activos. Entre estas se encuentran: secado por aspersión, coacervación (simple o compleja), liofilización, extrusión y gelación iónica (Salgado Padilla, 2020).

En este caso la tecnología de encapsulación escogida fue el secado por aspersión, debido a su alta eficiencia, rapidez, y bajo costo, además de su capacidad para generar partículas uniformes con un control preciso sobre sus características (Sosnik y Seremeta, 2015). El proceso implica atomizar una solución que combina el extracto con el encapsulante, la cual es expuesta a un flujo de aire caliente, formando un polvo seco mediante la rápida evaporación del solvente (Arenas-Jal et al., 2020).

El factor más determinante para lograr un encapsulamiento eficiente es la selección de la matriz encapsulante, esta debe tener bajo costo, baja higroscopicidad, capacidad de emulsificación,

## **EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

no reaccionar con el componente activo, baja viscosidad a altas concentraciones, entre otros requisitos (Rios-Aguirre y Gil-Garzón, 2021). Igualmente, es importante seleccionar la relación extracto: encapsulante más conveniente, evitando afectar el producto final (tamaño y morfología), eficiencia y retención del extracto en las cápsulas. En este sentido, en el presente proyecto se determinó cuál es el encapsulante y relación extracto: encapsulante usando secado por aspersión que conduce a los mejores rendimientos y eficiencias de encapsulación, así como retención del compuesto activo en el encapsulamiento de polifenoles extraídos de cáscara de cacao.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### 1. Objetivos

#### 1.1 Objetivo general

Determinar el material de pared y relación extracto polifenólico: agente encapsulante óptimos en la encapsulación de polifenoles de cáscara de cacao CCN-51 mediante secado por aspersion con base a la eficiencia de encapsulación, eficiencia de carga y rendimiento.

#### 1.2 Objetivos específicos

- Establecer las propiedades antioxidantes y el perfil de compuestos polifenólicos de los extractos de cáscara de cacao que serán encapsulados.
- Evaluar la eficiencia y rendimiento de encapsulación.
- Seleccionar la concentración y el material de pared que conduzca a los mayores rendimientos y eficiencias de encapsulación.

## 2. Marco conceptual

### 2.1 Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos naturales o sintéticos que pueden prevenir o retardar el daño oxidativo debido a que reducen la oxidación causada por los radicales libres en biomoléculas expuestas a este tipo de estrés (Bazinet y Doyen, 2017). Los antioxidantes naturales ayudan en el fortalecimiento inmune humano contra las enfermedades crónicas, protegiendo al ser humano de los efectos nocivos de los radicales libres (Ahmad y Al-Shabib, 2020); presentan un potencial antioxidante más alto en comparación con los sintéticos que hace a los antioxidantes naturales más valiosos y deseables, para ser usados como coadyuvantes o aditivos (Novoveská et al., 2019).

Los más utilizados en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética son los antioxidantes naturales de origen vegetal, en estos organismos los compuestos fenólicos como: ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, estilbenos y taninos son los responsables de la actividad antioxidante (Amarowicz y Pegg, 2019).

### 2.2 Polifenoles

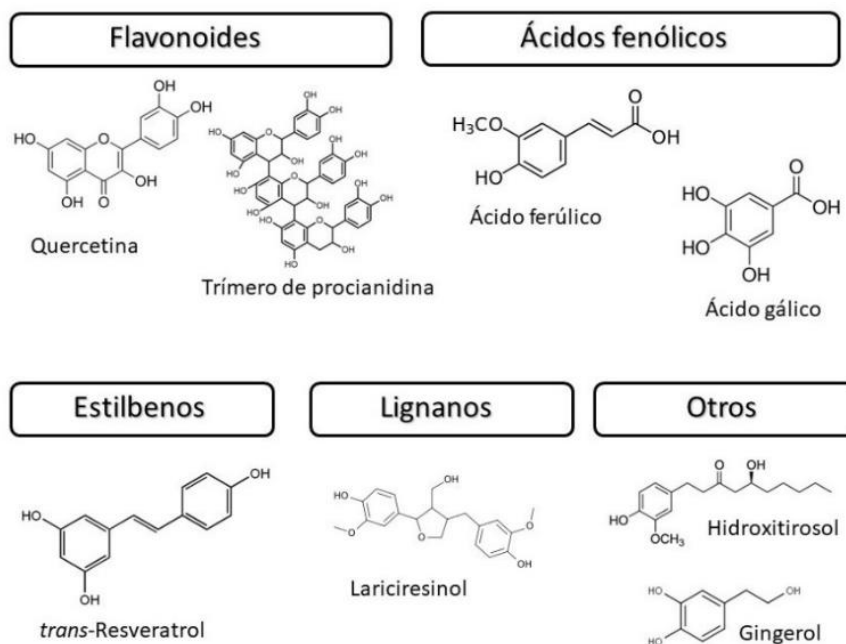
Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios que tienen en su estructura un anillo aromático (mínimo un anillo), unido a grupos hidroxilo (uno o más) (Espinosa Manrique et al., 2016). Estos compuestos en su mayoría son de origen vegetal, encontrándose en frutas, verduras, legumbres, etc.; asimismo, en productos derivados como el vino o cerveza, en alimentos específicos como: cacao, té, café y en la mayoría de las especias. En la figura 1 se muestran las estructuras químicas básicas para ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos, hay algunos que no hacen parte de ninguna de las clasificaciones previas como los alcoholes fenólicos (Pérez-Jiménez J., 2019). El grupo principal de los polifenoles son los flavonoides, estos se encuentran

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

comúnmente en alimentos como el té, el cacao y varias frutas, donde destacan compuestos como la epicatequina y la catequina (Vázquez-Ovando et al., 2016).

### Figura 1.

*Estructura química de las diferentes categorías de los polifenoles.*



Nota. Adaptado de Pérez-Jiménez J. Polifenoles de la dieta y enfermedades cardiometabólicas. ANALES RANM [Internet]. Real Academia Nacional de Medicina de España; An RANM · Año 2019 · número 136(03):298-307. DOI: <http://dx.doi.org/10.32440/ar.2019.136.03.rev11>

### 2.3 Cáscara de la mazorca de cacao

Es la corteza que recubre la mazorca del cacao, esta varía en color (verde, amarillo, rojo) dependiendo de la variante o clon y su grado de maduración. Además, posee componentes como: fibra dietaria, proteína y componentes bioactivos (se encuentran incluidos los polifenoles), esta es considerada como desecho debido a que no tiene una aplicación definida en la industria chocolatera (Fernanda González Arias et al., 2021). El cacao está compuesto principalmente de tres grupos de polifenoles: las catequinas (la epicatequina corresponde al 98% de catequinas) o flavan 3-ol que

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

representan el 37% del total; las antocianinas con cerca del 4% y las proantocianidinas con el 58% (Sotelo C. Et al., 2015).

### 2.4 Técnicas de encapsulación

En el encapsulamiento de polifenoles se han estudiado técnicas donde dependiendo de propiedades como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, tamaño de partículas, propiedades fisicoquímicas y coste de procesos, se escoge la adecuada para cada caso, estas metodologías incluyen los procesos como el secado por aspersion, coacervación simple y compleja, extrusión, liofilización y la gelación iónica (Salgado Padilla, 2020).

La técnica de liofilización es una opción con alta retención, pero de alto costo de operación (Garcia-Amezquita et al., 2015); la extrusión, aunque es continua y rápida, para compuestos termosensibles es menos eficiente por las altas temperaturas (Arroyo Lobo, 2015); la coacervación se necesita un alto control de la temperatura y es más compleja operativamente; y finalmente, en la gelación iónica se tiene un difícil control en el tamaño de las partículas (Gómez et al., 2018).

#### 2.4.1 *Secado por aspersion*

El secado por atomización es una técnica en la cual el material de recubrimiento y el extracto a encapsular se disuelven en una solución, que ingresa a una cámara de secado donde entra en contacto con un flujo de aire caliente, el cual evapora rápidamente el contenido líquido, resultando en polvos secos que posteriormente son almacenados (Arenas-Jal et al., 2020).

Es una metodología flexible, puede ser desarrollado tanto a escala de laboratorio como a escala industrial; los costos son menores en comparación a otros métodos de encapsulación; se producen partículas generalmente esféricas y con tamaño uniforme, facilitando su manejo. Además, en esta se obtienen altos valores de eficiencia, lo que significa una alta retención de polifenoles en las microcápsulas (Sosnik y Seremeta, 2015). No obstante, la limitación se encuentra en la decisión

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

del agente encapsulante para la alimentación del proceso, que puede ser mitigada optando por un material de pared adecuado.

### 2.5 Agentes encapsulantes

Son sustancias empleadas para el recubrimiento y protección (luz, calor, humedad, etc.) De medicamentos o nutrientes mediante una técnica de encapsulación, formando una película delgada alrededor del agente activo a atomizar. Hay varios tipos de encapsulantes dependiendo de su naturaleza química: gomas, celulosas, carbohidratos, proteínas, lípidos y material inorgánico (Rios-Aguirre y Gil-Garzón, 2021).

#### 2.5.1 Goma Arábica

Es una de las gomas más antiguas obtenida a partir de la savia de especies de árboles de la Acacia; sus características principales son su alta solubilidad en agua (hasta 50%) y la baja viscosidad que desarrolla (López Velasco y Sabogal Forero, 2018).

#### 2.5.2 Quitosano

Entre sus fuentes se encuentra la quitina, paredes celulares de algunas plantas y hongos, con amplias aplicaciones como encapsulante en la industria cosmética, farmacéutica, tratamiento de aguas, entre otros. Se conoce por su formación de películas, biodegradabilidad y biocompatibilidad (Poveda Arias, 2018).

#### 2.5.3 Alginato de sodio

Son utilizados como encapsulante por su capacidad de formación de geles, son solubles en agua, biodegradables, con estructura de polisacáridos y derivados de dos fuentes: el alga marrón de la familia *Phaeophyceae* y las bacterias *Azotobacter sp.* And *Pseudomonas sp.* (Hasnain et al., 2020).

### 3. Estado del arte

El encapsulamiento de compuestos activos es un área de investigación en constante evolución, con aplicaciones significativas en sectores como el farmacéutico, el alimentario, entre otros. La técnica de secado por aspersión ha emergido como una metodología prominente para este propósito. Numerosos estudios han subrayado la influencia de condiciones operativas en los encapsulados, entre las que están: la temperatura de entrada del aire, flujo de alimentación y flujo de gas de secado, las cuales facilitan o dificultan el encapsulamiento. Así mismo, la selección del tipo de encapsulante y relación extracto:encapsulante inciden en la calidad del producto, rendimiento y eficiencia (Díaz-Montes, 2023). A continuación, se detallan investigaciones relevantes en el contexto del encapsulamiento por secado por aspersión:

Rajabi et al. (2015) emplearon goma arábica, maltodextrina y gelatina, para encapsular un extracto de azafrán, usando un Mini Spray Dryer BUCHI (B-191) con bomba peristáltica a TE (temperatura de entrada) de  $180 \pm 5$  °C y relación de 1:2 [E(extracto):AE(agente encapsulante)], obteniendo valores de EE (eficiencia de encapsulamiento) que oscilaron entre 54.57% a 90.06%; concluyendo que la EE y la retención de los componentes activos aumentan al incrementar la cantidad de sólidos totales en la emulsión de alimentación en el secado.

Igualmente, da Silva Júnior et al. (2023) usaron goma arábica en combinación con maltodextrina como agentes encapsulantes en el secado por atomización de extractos de cáscara de ciruela, empleando un Mini Spray Dryer modelo MSD 1.0, Labmaq do Brasil, establecieron que las condiciones óptimas para la mayor retención de los polifenoles del extracto de ciruela son  $150^{\circ}\text{C}$  de  $T_E$ , 0.8 L/h de  $Q_A$  y un 100% de goma arábica como material de pared, resultando en valores de EE del 98%, lo cual indica una alta retención de polifenoles en la cápsula.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

Por otra parte, los autores Lauro et al. (2017) encapsularon extracto de naranja usando alginato de sodio y  $\beta$ -ciclodextrina 1:1 (EP: AE) como materiales de pared en un Mini Spray Dryer (Büchi B-191), operando a  $120^{\circ}\text{C}$  de  $T_E$  y un rango de  $T_S$  de  $68^{\circ}\text{C}$  a  $71^{\circ}\text{C}$ , realizaron estudios para estimar la mejor concentración del alginato de sodio y pruebas de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), obteniendo que la mejor concentración del alginato de sodio era del 2% p/v con una relación 1:3 (EP: AE), resultando en cápsulas de menor tamaño de partícula  $1.5 \pm 0.5$   $\mu\text{m}$ , menor contenido de humedad y una EE del 80%, las condiciones de operación lograban una disminución de la acumulación.

Pulido y Beristain (2010) encapsularon ácido ascórbico usando quitosano como material de pared, operando a una  $T_E$  de  $180 \pm 5^{\circ}\text{C}$  y una  $T_S$  de  $110 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ; el rendimiento de la microencapsulación fue cercano al 80%; para la evaluación del desempeño de las cápsulas estas fueron almacenadas a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$  a distintas  $a_w$  (actividad de agua); obteniendo que a medida que aumenta la actividad de agua se evidenció una mayor degradación en la morfología de las cápsulas.

Rendón Galindo et al. (2010) usaron como material de pared una combinación de quitosano con goma de mezquite, para encapsular aceite de linaza; con los siguientes parámetros de operación: una relación E:AE de 1:2, una  $T_E$  de  $170 \pm 5^{\circ}\text{C}$  y una  $T_S$  de  $95 \pm 5^{\circ}\text{C}$ . Los autores concluyeron que las microcápsulas con formación de una estructura más fina y densa tienen la mayor capacidad de retención del extracto, debido a que disminuyen la difusión del aceite de linaza durante el secado.

Considerando las conclusiones de los autores antes mencionados, se utilizarán como materiales de pared: goma arábiga, quitosano y alginato de sodio, de manera individual a tres relaciones extracto: encapsulante, buscando identificar cuál de los 3 encapsulantes y a qué relación se logran reportar los mejores rendimientos y eficiencias. No se realizó la combinación goma

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

arábiga-maltodextrina, debido a que la segunda es un polímero de glucosa que afecta de forma significativa la glucemia en la sangre (Angarita Dávila, 2016) y, se pretende que las cápsulas sean destinadas a la formulación de alimentos nutraceuticos para personas con diabetes y obesidad.

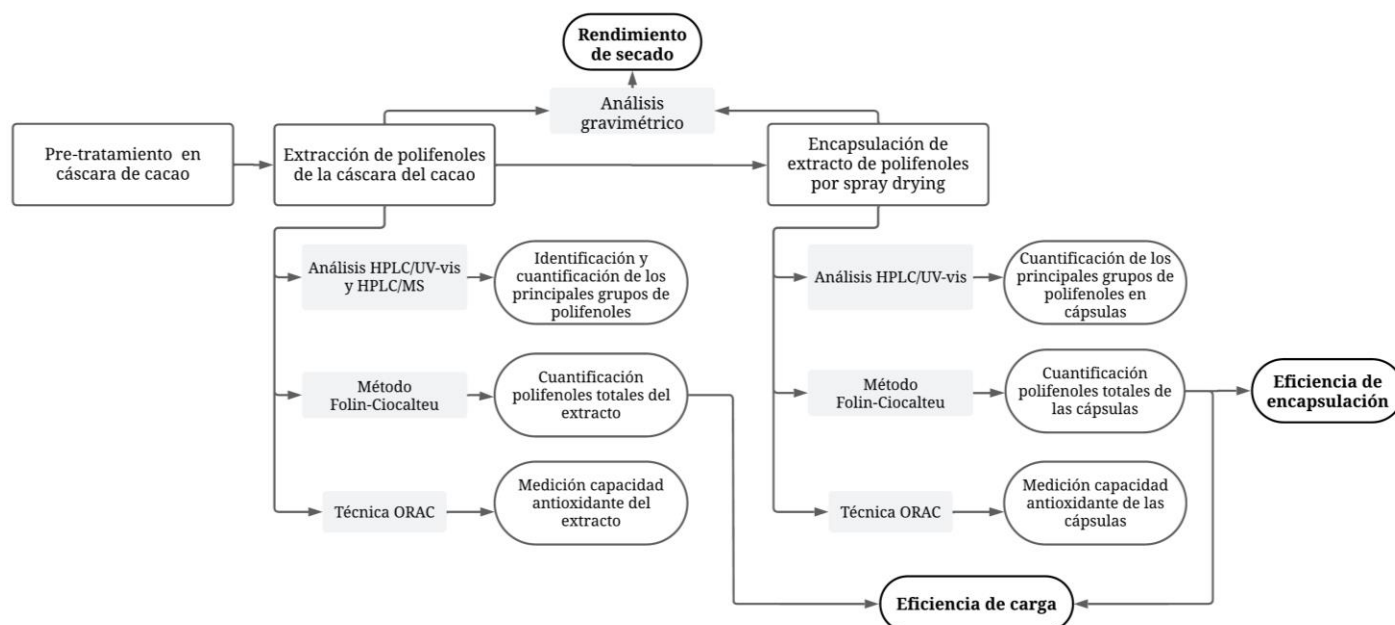
De igual forma, considerando la encapsulación de polifenoles realizada por Peñaranda Huerta (2019) se fijan los parámetros de operación de la siguiente manera:  $T_E$  de  $150^{\circ}\text{C}$  teniendo en cuenta que en sus resultados reportan que el rendimiento y la temperatura son directamente proporcionales y el máximo rendimiento se alcanzó en el intervalo entre  $140 - 160^{\circ}\text{C}$ , temperatura que es suficiente para el secado;  $Q_A$  de  $30 \text{ m}^3/\text{h}$ , considerando que el máximo  $Q_A$  que puede trabajar el equipo es de  $35 \text{ m}^3/\text{h}$ .

### 4. Metodología

El desarrollo de la experimentación se realizó progresivamente siguiendo el proceso descrito en la Figura 2, el cual está dividido en varias fases.

#### Figura 2.

*Fases metodológicas de la investigación y variables a estudiar.*



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### 4.1 Etapa 1: Extracción y caracterización de los polifenoles

Para la obtención de los polifenoles a encapsular se inició con la extracción de estos a partir de la cáscara de cacao de variedad CCN-51; empleando la metodología de Toro Uribe (2018) con algunas modificaciones. Luego de la extracción, para realizar su caracterización y determinar el perfil polifenólico presente se emplearon tres técnicas diferentes: usando HPLC/MS y HPLC/UV-Vis identificaron los tipos de polifenoles presentes en el extracto, se utilizó el método de Folin-Ciocalteu para conocer la cantidad total de polifenoles, ORAC para conocer el potencial antioxidante del EP.

A continuación, se describen de forma detallada los procedimientos realizados en secciones separadas y progresivas.

#### 4.1.1 Extracción de los Polifenoles

Inicialmente, las cáscaras fueron lavadas de forma manual, cortadas en un tamaño de 1 cm<sup>2</sup> y tratadas térmicamente para inhibir la enzima polifenol oxidasa. En seguida, las muestras se enfriaron en agua con hielo durante 30 min, y se enjuagaron. Luego, se secaron en horno y molieron hasta obtener un tamaño de partícula aproximado de 2 mm.

Posteriormente, se inició el proceso de extracción, con una relación de 1 g de cáscara seca por cada 30 ml de solución al 75 % de etanol/agua (v/v), esta se colocó en un baño de ultrasonido (Ultrasonic LC 30H, Elma, Singen, Alemania) por 15 min. Después, comenzó la extracción utilizando una placa caliente con agitador magnético (IKA C-MAG HS7, Alemania) y un termopar (IKA ETS-D5, Alemania); las muestras duraron 30 min en las placas con la agitación constante. El extracto resultante se centrifugó (4000 rpm, 4°C, 15 min) y el sobrenadante obtenido se filtró al vacío con papel filtro Whatman N°1. El etanol presente en el extracto se eliminó por evaporación

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

al vacío (Roto-evaporador) obteniendo extracto crudo, éste se liofilizó. Finalmente, los EP se refrigeraron y almacenaron en la oscuridad para su análisis.

### 4.1.2 Contenido total de polifenoles método Folin-Ciocalteu

La determinación del contenido total de polifenoles en la muestra se realizó aplicando el método de Folin-Ciocalteu (Duque Acevedo et al., 2020) con algunas modificaciones. Para este análisis, se usó ácido gálico como estándar ( $C_7H_6O_5$ ) y se generó una curva de calibración (Apéndice A) a diferentes concentraciones entre 0.10 a 1.00 mg/ml.

El procedimiento partió de la mezcla del ácido gálico/extracto (90  $\mu$ l) con el reactivo Folin-Ciocalteu (1.5 ml al 10% v/v), esta se incubó por 5 min en la oscuridad a temperatura ambiente, posteriormente se agregó el agente alcalino: carbonato de calcio ( $Na_2CO_3$ ; 1.5 ml al 20% v/v), se mezcló por 15 s en vórtex e incubó por 60 min a temperatura ambiente. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (MULTISKAN GO thermoscientific). Este proceso se realizó por duplicado para cada muestra.

Se empleó la ecuación obtenida en la curva de calibración (Apéndice A) y se determinó la concentración expresada en miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto liofilizado (mg EAG/g EL).

### 4.1.3 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC)

Se midió con el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), con la metodología de Pico-Hernández et al. (2020). Como elementos se emplearon: Lector de microplacas (Synergy HT Multi-Detection, Biotek Instruments, Inc. Winooski, VT, EE.UU.), solución AAPH, fluoresceína, trolox (patrón). Para este se realizó la respectiva curva de calibración con un patrón de Trolox de 3-25  $\mu$ mol por gramos de cacao seco con la ecuación 1:

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

$$\text{ORAC} \left( \frac{\text{Molaridad del trolox}}{\text{Masa de la muestra}} \right) = \frac{\text{ABC}_{\text{Muestra}} - \text{ABC}_{\text{Blanco}}}{\text{ABC}_{\text{Trolox}} - \text{ABC}_{\text{Blanco}}} * k \text{ (Ec. 1)}$$

En esta prueba de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, se llenaron 96 pozos de las microplacas con 150µl de la solución de fluoresceína de trabajo (se preparó un día antes aforando 971.65µl en 50ml de Buffer ph de 7.4), en 40 de los pozos de las microplacas se depositó un volumen de 25 µl de soluciones con los polifenoles (a concentraciones definidas), otros 40 pozos con 25µl de la solución Trolox para realizar la curva de calibración, y los pozos restantes de las microplacas se usaron como blanco y control (Pico-Hernández et al., 2020).

Las microplacas fueron incubadas por 10 min a 37°C en el lector de microplacas Thermo Scientific Fluoroskan Ascent, posteriormente se depositaron 25µl de una solución del reactivo AAPH (0.207g del reactivo en 5ml).

### 4.1.4 Cuantificación y perfil polifenólico mediante HPLC/UV-Vis y HPLC/MS

Para la cuantificación mediante HPLC/UV-vis se empleó el método por Quiroga Ruiz y Herrera Sánchez (2019) descrito en el apéndice D, para este se usaron los siguientes materiales: ultrasonido, metanol, ácido acético, vórtex, extracto liofilizado, filtros PDVF de 0.45 µm, agua tipo I, epicatequina, catequina y procianidina B1 y B2. Seguidamente se realizó el análisis HPLC/UV-vis (por duplicado para cada muestra) utilizando un LC/MS de trampa de iones (modelo 6320, Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). El método se empleó para identificar, separar y cuantificar fracciones con diferente grado de polimerización: (I) monómeros, (II) dímeros y (III) oligómeros presentes en el extracto.

Para ello, primero se generaron curvas de calibración de catequina y epicatequina (Apéndice B). Estas se elaboraron utilizando soluciones estándar con concentraciones conocidas de ambas sustancias. El procedimiento se realizó con el propósito de establecer las concentraciones

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

de catequina y epicatequina dentro de las cápsulas en estudio. Utilizando las curvas obtenidas y el área bajo la curva de los analitos en cada una de las muestras de cápsulas, se determinó la concentración de los principales polifenoles presentes en el extracto.

### 4.2 Etapa 2: Encapsulación de polifenoles y evaluación de variables de respuesta

Luego de la obtención del extracto, se continuó con el encapsulamiento siguiendo el procedimiento establecido por Michel Barba (2018) con algunas modificaciones, como materiales de pared se utilizaron: goma arábiga, alginato de sodio y quitosano (todos de grado alimenticio).

#### 4.2.1 Encapsulación de polifenoles

Inicialmente, se dispersó 1 gr EP en la solución de recubrimiento; se empleó una relación EP(extracto polifenólico liofilizado):AE(agente encapsulante) de 1:3, 1:7 y 1:11 para la goma arábiga y EP:AE de 1:1, 1:2 y 1:3 para el alginato de sodio y el quitosano. La relación EP:AE difiere dependiendo del encapsulante debido a la alta viscosidad que tienen el alginato y quitosano al momento de preparar la solución. Esta fue preparada con agua destilada y el AE con una relación de sólidos en la solución de (p/v) de 4% para la goma arábiga y al 1% para el alginato de sodio y el quitosano. La solución de recubrimiento con quitosano se realizó partiendo de una solución acuosa de ácido acético al 1% (v/v) a la cual se le adiciona quitosano a una concentración de 1% (p/v) (Pulido y Beristain, 2010). Las soluciones con el AE se ubicaron en una plancha a 55°C con agitación a 5000 rpm durante 20 min para lograr la homogenización completa. Luego, para aumentar la uniformidad en la solución se empleó un agitador Ultraturrax a 7000 rpm por 5 minutos.

Finalmente, se secó la solución obtenida usando el equipo Mini Spray Dryer S-300 operando a las siguientes condiciones:  $Q_E$  8 ml/min para la goma arábiga, 6 ml/min para el alginato de sodio y quitosano (debido a la viscosidad se disminuyó el flujo para evitar obstrucciones en el

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

equipo), con una TE de 150°C (valor de temperatura que incrementa la eficiencia de encapsulamiento sin la degradación de polifenoles),  $Q_G$  de 500 L/h y un  $Q_A$  de 30 m<sup>3</sup>/h (máximo permitido por el equipo). Por último, las cápsulas se almacenaron en viales de vidrio ámbar, protegidas de la luz y en refrigeración.

### 4.2.2 Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante de los encapsulados

Para la caracterización de las cápsulas y determinar los valores de las variables de respuesta, se debe evaluar el contenido total polifenólico y la capacidad antioxidante del contenido al interior de los encapsulados.

Para la cuantificación del contenido total de polifenoles en las cápsulas ( $C_{TP}$ ) fue necesario la rotura de estas, para ello, se empleó la metodología descrita por Nori et al. (2011) con algunas modificaciones, así: se agregó 1ml de una solución de citrato de sodio al 10% p/v a 0.1 gr de microcápsulas, se aumentó el ph a 12.0 agregando una solución de naoh de 0.1 mol/L se agitó en vórtex durante 2 min, luego el ph se neutralizó agregando 0.2 mol/L de hcl. Posteriormente, se agregó 2.5 ml de etanol, la mezcla se agitó durante 2 min en vórtex y se centrifugó a 4000 rpm por 20 minutos. Luego de esto, al sobrenadante obtenido se le aplicaron los métodos: HPLC/UV-Vis, Folin-Ciocalteu y ORAC descritos en el inciso 4.1. Estas pruebas permiten identificar cuál de los materiales de pared empleados retuvo mejor los polifenoles y si se preservó la capacidad antioxidante en estos.

### 4.3 Etapa 3: Diseño experimental y análisis de variables.

Se realizó un análisis de varianza ANOVA multifactorial completamente aleatorizado, las variables para el diseño experimental fueron: tipo de material de pared (goma arábica, quitosano y alginato) y relaciones de EP:AE (baja, media y alta).

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

**Tabla 1.**

*Diseño experimental para el análisis de las variables.*

| Agente<br>Encapsulante | Relación EP:AE |       |      |
|------------------------|----------------|-------|------|
|                        | Baja           | Media | Alta |
| Goma arábica (GA)      | 1:3            | 1:7   | 1:11 |
| Alginato (ALG)         | 1:1            | 1:2   | 1:3  |
| Quitosano (QUI)        | 1:1            | 1:2   | 1:3  |

Manteniendo las demás condiciones de operación fijas, establecidas al inicio del secado. Las variables de respuesta fueron: rendimiento y eficiencia, esto se sustenta en la literatura de secado por aspersión en investigaciones realizadas por: Darío López et al. (2009), Ribeiro et al. (2019), Akhavan Mahdavi et al. (2016), Pacheco Párraga y Topanta Quishpe (2022), estas variables son determinantes para garantizar altos valores de retención.

A partir del análisis estadístico y una optimización realizada acon un programa estadístico, se seleccionó la concentración y el material de pared que resultó con los mayores rendimientos y eficiencias de encapsulación.

### 4.3.1 Evaluación del rendimiento del secado

Se empleó la ecuación 2, mencionada por González-González et al. (2022) que permite la determinación del rendimiento de secado.

$$R(\%) = \left( \frac{P_C}{P_{AE} + P_P} \right) * 100 \text{ (Ec. 2)}$$

Donde,  $P_C$  es el peso del polvo de cápsulas obtenido al finalizar el secado;  $P_{AE}$  y  $P_P$  corresponden al peso del agente encapsulante y al peso de los extractos de polifenólicos secos (respectivamente) al momento de la preparación de la solución.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### 4.3.2 Evaluación de la eficiencia de encapsulamiento

La eficiencia de encapsulamiento (EE) es una variable operacional del secado, según Grassia et al. (2021) es la relación entre el contenido total de polifenoles dentro de las cápsulas ( $C_{TP}$ ) y el contenido superficial de polifenoles fuera de las cápsulas ( $C_{SP}$ ), expresado como porcentaje (ecuación 3).

$$EE (\%) = \left( \frac{C_{TP} - C_{SP}}{C_{TP}} \right) * 100 \text{ (Ec. 3)}$$

Para la determinación del contenido superficial de polifenoles ( $C_{SP}$ ) se utilizó la metodología empleada por Grassia et al. (2021) con algunas modificaciones, en la que se preparó una solución con 0.1 g de los encapsulados y una dilución de metanol y etanol (1:1). Estos se agitaron en vórtex por 5 min; luego, se tomaron 50  $\mu$ l del sobrenadante. Finalmente, se aplicó el procedimiento de Folin-Ciocalteu.

En el caso del contenido total de polifenoles ( $C_{TP}$ ), se tomaron 50  $\mu$ l del sobrenadante obtenido a partir de la centrifugación en la rotura de las cápsulas (Nori et al., 2011) y se utilizó la metodología Folin-Ciocalteu.

### 4.3.3 Eficiencia de carga

Se emplea para conocer la cantidad real de polifenoles que se encapsularon, considerando las diversas modalidades de pérdida, las cuales no son tenidas en cuenta en la anterior ecuación de eficiencia. Para determinar la eficiencia de encapsulación según el contenido total de polifenoles se utilizará la siguiente ecuación:

$$EC(\%) = \left( \frac{C_{Tpf} * P_C}{C_{Tpi} * P_P} \right) * 100 \text{ (Ec. 4)}$$

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

Donde  $P_c$  es el peso de las cápsulas obtenidas,  $c_{tpf}$  es el contenido total de polifenoles luego de la rotura de las cápsulas,  $P_p$  es el peso de la muestra de extracto de polifenoles a encapsular, y  $c_{tpi}$  es el contenido total de polifenoles del extracto de la cáscara de cacao.

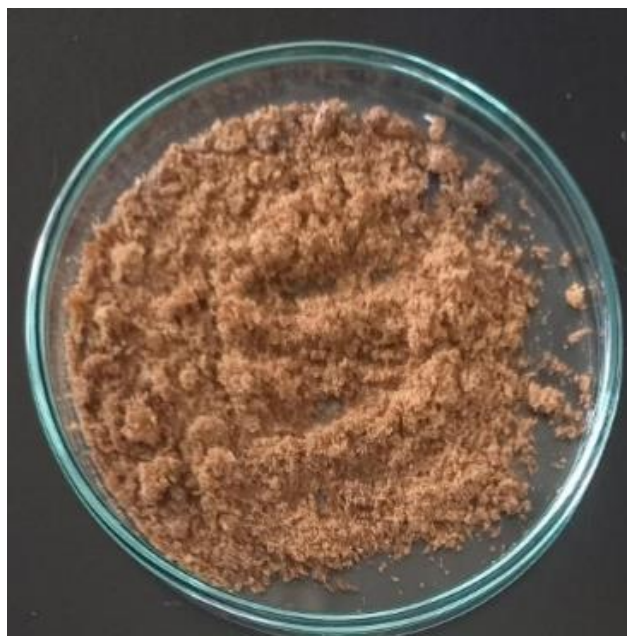
### 5. Resultados

#### 5.1 Extracción y caracterización de polifenoles

Se realizaron varias extracciones siguiendo la metodología descrita en la sección 4.1, utilizando 20 g de cáscara de cacao CCN-51 en cada una, hasta procesar un total de 1400 g. El extracto crudo obtenido, se dividió en 12 lotes para ser liofilizados (obteniendo una masa total de 244.84 g de extractos liofilizados). Como se observa en la figura 3, estos presentan una textura granulosa y ligeramente pegajosa, con una coloración marrón. Debido a su alta higroscopicidad se deben almacenar en un recipiente hermético para prevenir la absorción de humedad.

#### Figura 3.

*Extractos obtenidos a partir de la cáscara de cacao CCN-51.*



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

En la tabla 2, se observan la cantidad de cáscara de cacao tratada por lote y la cantidad extracto liofilizado obtenido en cada uno, así como el rendimiento promedio de extracción.

**Tabla 2.**

*Cantidad de cáscara tratada por lote y extracto de polifenoles obtenidos.*

| <b>Lote</b>              | <b>Cáscara tratada [g]</b> | <b>Polvo polifenólico [g]</b> | <b>Rendimiento</b> |
|--------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------------|
| <b>1</b>                 | 60                         | 9.826                         | 16%                |
| <b>2</b>                 | 60                         | 11.605                        | 19%                |
| <b>3</b>                 | 120                        | 19.161                        | 16%                |
| <b>4</b>                 | 120                        | 21.601                        | 18%                |
| <b>5</b>                 | 120                        | 19.581                        | 16%                |
| <b>6</b>                 | 120                        | 20.188                        | 17%                |
| <b>7</b>                 | 120                        | 20.112                        | 17%                |
| <b>8</b>                 | 120                        | 21.837                        | 18%                |
| <b>9</b>                 | 140                        | 25.103                        | 18%                |
| <b>10</b>                | 140                        | 27.255                        | 19%                |
| <b>11</b>                | 140                        | 24.014                        | 17%                |
| <b>12</b>                | 140                        | 24.553                        | 18%                |
| <b>Promedio</b>          |                            | 20.403                        | 17.42%             |
| <b>Desviación (n=12)</b> |                            | 5.174                         | 1.08%              |

El rendimiento promedio de la extracción de polifenoles fue de  $17.42 \pm 1.08\%$ , un valor que se alinea con estudios previos como el Muñoz et al. (2015) quienes reportaron un rendimiento global del 15% para extractos fenólicos de *Champa* (*Campomanesia lineatifolia*), este se realizó a tres temperaturas 20, 50 y 70 °C, usando agua, etanol y mezcla etanol-agua (7:3) como disolventes.

Al completar todas las extracciones de polifenoles, se integraron los distintos lotes del extracto en un lote final homogéneo, que fue utilizado para los análisis de caracterización y cuantificación las propiedades antioxidantes del extracto.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

## 5.1.1 Identificación de los polifenoles y cuantificación mediante HPLC/MS y HPLC/UV-vis

La identificación de compuestos presentes en el extracto del lote final se realizó a través de cromatografía líquida de ultra-alta resolución con detector de masas Orbitrap (UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS) por CROM-MASS (Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas) de la Universidad Industrial de Santander (Apéndice D).

**Tabla 3.**

*Perfil de compuestos polifenólicos del extracto de cáscara de cacao CCN-51.*

| Tipo de polifenol                      | Compuesto                       | Concentración en muestra [mg/g] |
|--|---------------------------------|---------------------------------|
| Flavonoides                            | Epicatequina (EC)               | 0.915                           |
|  | Catequina (C)                   | 0.025                           |
|  | Epigallocatequina galato (EGCG) | $<1*10^{-5}$                    |
|  | Apigenina                       | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Epicatequina galato (ECG)       | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Epigallocatequina (EGC)         | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Luteolina                       | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Naringenina                     | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Pelargonidina 3-glucósido       | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Pinocembrina                    | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Quercetina                      | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Rutina                          | $<5*10^{-6}$                    |
| Metilxantinas                          | Cafeína                         | 0.01                            |
|  | Teobromina                      | 0.005                           |
|  | Teofilina                       | $<5*10^{-6}$                    |
| Ácidos fenolicos                       | Ácido vanílico                  | 0.04                            |
|  | Ácido rosmarínico               | $<1.25*10^{-4}$                 |
|  | Ácido p-hidroxibenzoico         | $<2*10^{-5}$                    |
|  | Ácido trans-cinámico            | $<2*10^{-5}$                    |
|  | Ácido p-cumárico                | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Ácido cafeico                   | $<5*10^{-6}$                    |
| Fenoles diterpenoides y triterpenoides | Ácido ferúlico                  | $<5*10^{-6}$                    |
|  | Ácido carnósico                 | $<2*10^{-5}$                    |
|  | Ácido ursólico                  | $<5*10^{-6}$                    |

En la Tabla 3 se presenta el perfil de compuestos presentes en el extracto obtenido, destacando la presencia de polifenoles del tipo flavonoide como epicatequina y catequina. Así

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

como del tipo ácido fenólico como el ácido vanílico. Además, se puede ver presencia de otras sustancias como metilxantinas, tales como la cafeína y teobromina, características por su presencia en la cáscara de cacao, según lo señalado por Sotelo C. Et al. (2015). Adicionalmente, se cuantificó la presencia de epicatequina y catequina en cada una de las extracciones realizadas y en el lote final, obteniendo las concentraciones utilizando HPLC/UV-vis, una técnica más sencilla. Las concentraciones en las extracciones se encuentran en los intervalos de 2.191-2.738 mg/g y 0.535-0.771 mg/g, respectivamente.

Se observó la presencia de procianidinas en los resultados de HPLC/UV-Vis (Apéndice E). Sin embargo, estas no fueron identificadas en los análisis por HPLC/MS con interfaz de electro nebulización (ESI), la cual es una metodología efectiva para la detección de ese tipo de compuestos (Wong-Paz et al., 2021). Esto sugiere que los resultados de HPLC/UV-Vis presentan estas desviaciones por factores como el solapamiento de picos con otras sustancias que presentan la absorción de luz en el mismo rango o por reacciones de epimerización.

Este fenómeno fue documentado en otros estudios como el realizado por Rha et al. (2021) donde experimentaron solapamiento entre sustancias como la rutina y epicatequina galato. Además, es relevante destacar que el espectro de compuestos fenólicos normalmente presenta bandas de máxima absorbancia entre los 200 y 300 nm (Sarria Villa et al., 2021), este varía dependiendo de la naturaleza del compuesto, donde aquellos con: máxima absorbancia y tiempos de retención que exhiban valores muy próximos entre sí, tienen alta probabilidad de solaparse, lo que puede dar lugar a anomalías en los resultados analíticos (Rha et al., 2021). Debido a esto, los investigadores recomiendan una cuidadosa interpretación en los picos del cromatograma de HPLC/UV-Vis.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

El factor de las reacciones de epimerización (Apéndice F) donde un epímero se transforma en otro epímero a partir del cambio de configuración en sus centros quirales. Las procianidinas están constituidas de unidades de catequina y epicatequina, en cuyos centros quirales puede ocurrir estas reacciones, dando lugar a tres epímeros potenciales, en el contexto de las catequinas la transformación que más prevalece es a epicatequina, de igual manera esto puede darse de manera inversa (Kothe et al., 2013). Según los académicos: Gil Quintero (2012) y Kothe et al. (2013) pueden presentarse en momentos donde la muestra haya sido expuesta a: altas temperaturas, pH bajo (ácido), luz, tiempo de almacenamiento prolongado y exposición al oxígeno (oxidación).

Investigadores como Benítez-Correa et al. (2023) evaluaron la extracción de polifenoles a partir de cáscara de cacao, un subproducto del procesamiento de granos de cacao fermentados, secos y tostados en Perú. Utilizando una solución de etanol al 70%, lograron obtener  $0.68 \pm 0.03$  mg/g de epicatequina y  $0.38 \pm 0.01$  mg/g de catequina. Estos valores son menores a los reportados por HPLC/UV-vis (Epicatequina: 2.191-2.738 mg/g y Catequina: 0.535-0.771mg/g) en la investigación. Las diferencias en los resultados pueden deberse a variaciones en el origen y el procesamiento de la materia prima, así como en los métodos de extracción empleados.

### 5.1.2 Contenido total de polifenoles método Folin-Ciocalteu para el extracto polifenólico

Se realizó la curva de calibración siguiendo la metodología de Folin-Ciocalteu descrita en la sección 4.1.2, en el apéndice A se encuentra la curva de calibración obtenida para el ácido gálico, con la recta y el  $R^2$ . En la Tabla 4 se reportan los valores de concentración de polifenoles expresados en miligramos equivalente de ácido gálico por gramos de extracto de polifenoles liofilizado (mg EAG/ g EL), calculados usando la curva de calibración.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

**Tabla 4.**

*Contenido polifenólico en lote final del extracto.*

| <b>No. Muestra</b>       | <b>DO (promedio)</b> | <b>Mg EAG/g EL</b> |
|--------------------------|----------------------|--------------------|
| 1                        | 0.655                | 79.205             |
| 2                        | 0.862                | 98.261             |
| 3                        | 1.242                | 96.821             |
| 4                        | 1.303                | 99.648             |
| 5                        | 1.127                | 99.399             |
| 6                        | 0.944                | 114.065            |
| 7                        | 0.601                | 73.526             |
| 8                        | 0.775                | 91.749             |
| 9                        | 0.602                | 72.740             |
| 10                       | 0.816                | 89.635             |
| 11                       | 0.644                | 80.222             |
| 12                       | 0.853                | 90.979             |
| <b>Lote final</b>        |                      | 90.979             |
| <b>Desviación (n=12)</b> |                      | 12.874             |

El valor-P calculado para estos datos fue mayor al umbral de significancia de 0.05, indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias.

El extracto polifenólico presentó un contenido total de polifenoles de  $90.47 \pm 12.87$  mg EAG/gel, cifra que se encuentra dentro del intervalo obtenido por Villamizar-Jaimes y López-Giraldo (2017) quienes obtuvieron concentraciones en un rango de 60 a 91 mg EAG/ g para la extracción de polifenoles de cáscara de cacao de cinco variedades estudiadas. Así mismo, se encuentra dentro del rango obtenido por Rachmawaty et al. (2019), que oscila entre 49.92 y 94.92 mg EAG/ g, la cáscara tratada es de Sulawesi Occidental, Indonesia. Investigadores como Ordoñez et al. (2019) obtuvieron  $17.8 \pm 1.3$  mg EAG/ g, cuyos resultados son menores a los de este proyecto, la materia base (cáscara de cacao) procedió de la cooperativa Agroindustrial Naranjillo, Perú.

Los resultados también fueron superiores a los encontrados para extractos polifenólicos extraídos de grano de cacao como los reportados por: Ibarra Cabrera (2018) quienes extrajeron

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

polifenoles de diferentes clones en la región de Nariño, los valores del CTP se encontraron entre  $35.34 \pm 0.70$  a  $56.33 \pm 1.19$  mg EAG/g, Zapata Bustamante et al. (2013) emplearon los clones: CCN 51, ICS 1, ICS 60, ICS 95 y TSH 565 del municipio Miranda en el departamento de Cauca, donde ICS 60 y TSH 565 resultaron en los mayores valores en granos sin fermentar de CTP de 21.69 y 38.64 mg EAG/g respectivamente, en los granos fermentados ICS 1 alcanzó los mayores valores de CTP en un intervalo de 22.58 y 50.23 mg EAG/g.

Es relevante señalar que la cantidad de polifenoles cambia dependiendo de la región de cultivo del cacao (altitud, temperatura, humedad, tipo de suelo), el tipo de clon o variedad de cacao utilizada pues puede cambiar su composición y características agronómicas, finalmente las condiciones de cultivo (sombra, fertilización, manejo de suelo, nutrientes del suelo) influyen en la generación de metabolitos secundarios como los polifenoles (Urbańska y Kowalska, 2019) (Benítez-Correa et al., 2023).

### 5.1.3 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC)

A partir de los resultados obtenidos de la prueba descrita en la metodología de la sección 4.1.3, se estimaron las áreas bajo la curva para la muestra y los Trolox, posteriormente se aplica la Ecuación 1, obteniendo los siguientes resultados para los extractos liofilizados de la cáscara de cacao previamente tratada.

**Tabla 5.**

*Capacidad antioxidante en lote final del extracto.*

| Lote | CA [ $\mu\text{mol TE/g}$ ] |
|------|-----------------------------|
| 1    | $1534.69 \pm 354.59$        |
| 2    | $2551.53 \pm 480.78$        |
| 3    | $1064.35 \pm 175.7$         |
| 4    | $1515.21 \pm 262.78$        |
| 5    | $1125.27 \pm 257.96$        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

|                          |                  |
|--------------------------|------------------|
| 6                        | 2301.06 ± 231.78 |
| 7                        | 1073.75 ± 185.26 |
| 8                        | 1191.58 ± 262.79 |
| 9                        | 1842.32 ± 282.23 |
| 10                       | 2272.18 ± 742.46 |
| 11                       | 1400.56 ± 158.04 |
| 12                       | 1454.62 ± 270.27 |
| <b>Lote final</b>        | 1610.59          |
| <b>Desviación (n=24)</b> | 513.62           |

El valor promedio de la capacidad antioxidante del extracto polifenólico liofilizado es  $1610.59 \pm 513.62$   $\mu\text{molel/g}$ , que es similar al obtenido por Zapata Bustamante et al. (2015) quienes emplearon polifenoles extraídos del grano de cacao con el valor de  $1473.22 \pm 65.15$   $\mu\text{molel/g}$ . No obstante, estos resultados son mayores a los reportados por Cáceres-Roa et al. (2023) quienes trabajaron polifenoles extraídos de la cáscara de cacao y obtuvieron valores de  $1002.59 \pm 110.21$   $\mu\text{molel/g}$  para la capacidad antioxidante, están en el mismo orden de magnitud.

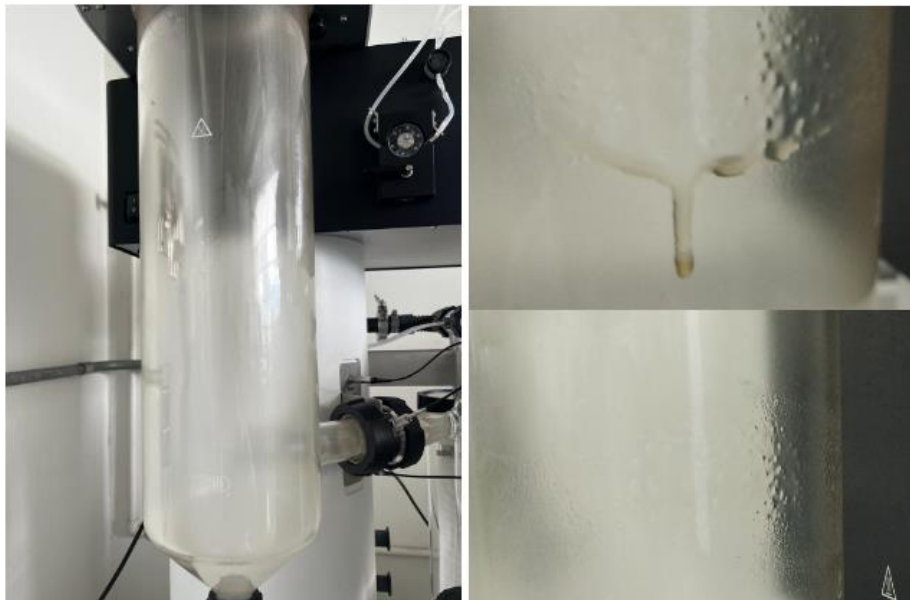
Estudios como Dobrinas et al. (2021), reportan que la capacidad de polifenoles está directamente relacionada con el contenido de polifenoles, esto se evidencia en este trabajo donde los lotes que presentaron mayor contenido de polifenoles se reportaron las mayores capacidades antioxidantes. Finalmente, se puede inferir que los extractos obtenidos en este trabajo tienen un alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante lo que aumenta su potencial para la implementación de estos en formulaciones alimentarias y farmacéuticas.

### 5.2 Encapsulación de polifenoles y evaluación de variables de respuesta

En el proceso de la obtención de las cápsulas debido a la alta viscosidad de los encapsulantes (quitosano y alginato), se observó una adherencia del material encapsulante y de EP en la cámara de secado del equipo como se observa en la figura 4.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES****Figura 4.**

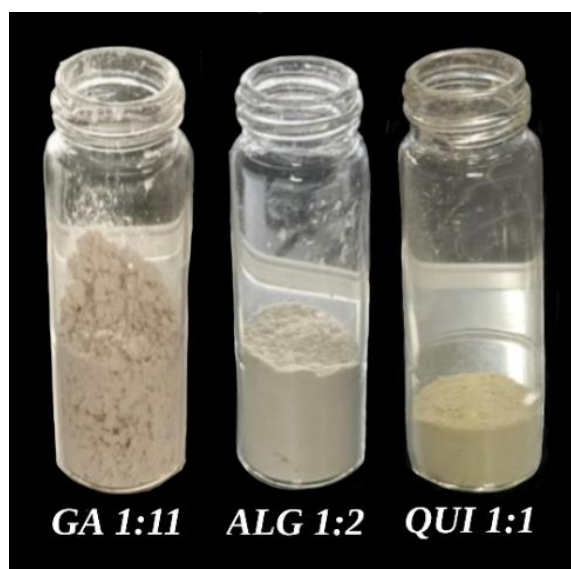
*Formación de las cápsulas en la cámara de secado.*



En la figura 5 se visualizan las cápsulas generadas, estas se mantuvieron en refrigeración y en un ambiente oscuro para su posterior análisis.

**Figura 5.**

*Encapsulados obtenidos para los encapsulantes goma arábica, alginato y quitosano.*



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

Después del secado se formaron las microcápsulas, las cuales presentaron una textura polvorienta fina. En la figura 5, se evidencia una variación cromática atribuible a los materiales de la pared utilizados: goma arábica exhibe un tono rojizo, el alginato se manifiesta en un color blanquecino y el quitosano muestra un matiz amarillento. Así mismo, para muestras en las que se empleó la misma relación se observó mayor cantidad de encapsulados recuperados en la goma arábica, esto se debe a la adherencia del quitosano y alginato a la cámara de secado.

Con las cápsulas obtenidas, se realiza su ruptura siguiendo la metodología de Nori et al. (2011), con algunas modificaciones. El material fragmentado fue utilizado para realizar las pruebas descritas en las secciones 4.1.1, 4.1.2 y la metodología HPLC/UV-Vis.

### 5.2.1 Contenido total y superficial de polifenoles en las cápsulas

El contenido superficial y total de polifenoles presente en los encapsulados se cuantificó por duplicado, en la tabla 5 se observa el promedio obtenido para cada variable evaluada.

**Tabla 6.**

*Contenido polifenólico total y superficial de los encapsulados.*

| Relación<br>EP:AE | Material de Pared | C <sub>PS</sub><br>[mgeag/gee]* | C <sub>TP</sub><br>[mgeag/gee]* |
|-------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1:3               | Goma Arábica      | 2.631 ±0.209                    | 12.655±0.052                    |
| 1:7               |                   | 0.722±0.030                     | 3.374±0.105                     |
| 1:11              |                   | 0.678±0.271                     | 3.048±0.120                     |
| 1:1               | Alginato de sodio | 3.238±0.844                     | 17.522±0.504                    |
| 1:2               |                   | 3.097±0.104                     | 13.068±0.308                    |
| 1:3               |                   | 1.512±0.174                     | 11.808±1.306                    |
| 1:1               | Quitosano         | 0.999±0.202                     | 9.357±1.167                     |
| 1:2               |                   | 1.308±0.848                     | 5.041±0.107                     |
| 1:3               |                   | 0.320±0.020                     | 1.744±0.371                     |

\*mgeag/gee: Miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto encapsulado.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

En el caso de la goma arábica con una relación EP:AE de 1:3, se obtuvo el mayor valor de  $C_{TP}$ , alcanzando una magnitud de  $12.655 \pm 0.052$  mgeag/gee. Nguyen et al. (2024) reportaron datos similares, con un  $C_{TP}$  de  $14.950 \pm 0.70$  mgeag/gee al utilizar una mezcla de maltodextrina y goma arábica en una proporción de 8:2 (w/w) para la encapsulación de un extracto polifenólico de cáscara de cacao, con una relación EP:AE de 1:1. Al ajustar la proporción de maltodextrina y goma arábica a 9:1 (w/w), estos autores obtuvieron un  $C_{TP}$  de  $14.910 \pm 0.36$  mgeag/gee. De manera similar, Vargas-Munévar et al. (2024) reportaron un  $C_{TP}$  de  $18.0 \pm 1.2$  mgeag/gee utilizando goma arábica para encapsular polifenoles de granos de cacao (clones CCN51, ICS-1, ICS-65, TSH-565, IMC-67 y ICS-60) con procedencia de Tolima, Colombia. Los valores se encuentran en el mismo rango de magnitud que los resultados obtenidos en este estudio.

En cuanto al alginato de sodio (1%) en una relación 1:1 proporcionó un valor de  $17.522 \pm 0.504$  mgeag/gee, lo cual representa el valor más alto entre los encapsulantes implementados para relaciones bajo y medio en la presente investigación. En contraste, Lauro et al. (2017) reportaron un  $C_{TP}$  de  $33.50 \pm 0.21$  mgeag/g, utilizando el mismo compuesto al 2% para encapsular un subproducto de naranja sanguina rico en polifenoles, lo que generó resultados que casi duplican a los obtenidos en el presente estudio. Esta diferencia se debe a las propiedades químicas y la composición del extracto empleado, además de la concentración del alginato de sodio en la solución E (extracto):AE (agente encapsulante).

Empleando quitosano al 1% como material de pared en una proporción de 1:1 produjo el  $C_{TP}$  (dentro del rango evaluado para este AE) más alto, con un valor de  $9.357 \pm 1.167$  mg EAG/g EE. Estos resultados son consistentes con los reportados por Nguyen et al. (2024) quienes encapsularon cáscara de cacao utilizando una combinación de maltodextrina, goma arábica y quitosano en una relación de 8:1:1 (p/p), obteniendo un  $C_{TP}$  de  $12.640 \pm 0.570$  mg EAG/g.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

## 5.2.2 Capacidad antioxidante (Técnica ORAC) para los encapsulados

En la siguiente tabla, se presentan los resultados obtenidos de la cuantificación de la capacidad antioxidante mediante la técnica ORAC de cada uno de los encapsulantes.

**Tabla 7.**

*Capacidad antioxidante para los encapsulados.*

| Relación EP:AE | Material de Pared | Capacidad Antioxidante [ $\mu\text{mol ET/g}$ ]* |
|----------------|-------------------|--|
| 1:3            | Goma Arábica      | 1200.90 $\pm$ 189.49                             |
| 1:7            |                   | 1142.15 $\pm$ 67.98                              |
| 1:11           |                   | 1033.73 $\pm$ 485.58                             |
| 1:1            | Alginato de sodio | 1030.99 $\pm$ 153.37                             |
| 1:2            |                   | 983.46 $\pm$ 114.05                              |
| 1:3            |                   | 665.58 $\pm$ 129.30                              |
| 1:1            | Quitosano         | 665.58 $\pm$ 129.30                              |
| 1:2            |                   | 554.95 $\pm$ 195.96                              |
| 1:3            |                   | 461.84 $\pm$ 86.06                               |

\* $\mu\text{mol ET/g}$ : Micromol equivalente de Trolox por gramo.

Se observa que el valor más alto de capacidad antioxidante para cada uno de los encapsulantes es logrado en la relación baja. De manera descendente, la goma arábica tiene una capacidad antioxidante de 1200.90 $\pm$ 189.49  $\mu\text{mol ET/g}$ , siendo el valor máximo para el rango de AE y relaciones EP:AE estudiados, seguidamente el alginato de sodio resultando en 1030.99 $\pm$ 153.37  $\mu\text{mol ET/g}$  y en última instancia el quitosano logra el valor de 665.58 $\pm$ 129.30  $\mu\text{mol ET/g}$ .

Vargas-Munévar et al. (2024) encapsularon granos de cacao CCN51 empleando goma arábica (al 16%) por liofilización y secado por aspersion, con la primera metodología se generó un valor de 1309.79 $\pm$ 22.38  $\mu\text{mol ET/g}$ , no obstante, con la segunda se obtuvo un 492.54 $\pm$ 19.35  $\mu\text{mol ET/g}$ . En otras investigaciones como la realizada por Valeriano Tonon (2009) quien

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

encapsuló pulpa de açai con goma arábica (6%) resultó en  $2408.87 \pm 58.24$   $\mu\text{mol ET/g}$ . En los datos reportados se evidencian diferencias debido a: la metodología de encapsulación, extracto, concentración del encapsulante, procedencia del encapsulante y proceso de extracción.

En estudios previos, como el de da Silva Carvalho et al. (2019), quienes encapsularon extracto de *Jussara (Euterpe edulis Martius)* con alginato de sodio al 2% p/p obtuvieron un valor de  $1606.0 \pm 67.6$   $\mu\text{mol TE/g}$ , el cual es mayor al reportado en el estudio. Además, al combinar alginato con quitosano (1% p/p), obtuvieron  $844.6 \pm 53.0$   $\mu\text{mol TE/g}$ , lo que sugiere posibles interacciones entre los encapsulantes (tipo de material y concentración) que afectan la eficiencia del proceso y la estabilidad del compuesto bioactivo.

La mayor retención de polifenoles se logra al emplear la goma arábica como material de pared. Esto es debido a las propiedades de cada uno de los materiales de pared en condiciones de temperaturas elevadas, la goma arábica forma una matriz sólida y estable, mientras que el alginato y el quitosano forma un gel que facilita la formación de una película de solución en la cámara de secado (Figura 4) debido a su alta viscosidad, por esto, en comparación con la goma arábica, se obtienen resultados de cantidad total de polifenoles y capacidad antioxidante menores.

Un factor adicional que respalda la preferencia por la goma arábica como encapsulante son sus buenas propiedades emulsionantes, alta compatibilidad con los ingredientes activos sin afectar su funcionalidad, alta solubilidad, baja viscosidad y un aumento en la temperatura de transición vítrea, variable que influye en la estabilidad y formación de encapsulados (Ramírez et al., 2015).

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

## 5.2.3 Identificación y cuantificación de los polifenoles mediante HPLC/UV-Vis

En la tabla 8, se presentan los resultados de concentración de epicatequina y catequina presentes en los encapsulados. Esta técnica se emplea para confirmar la presencia de compuestos fenólicos en las cápsulas.

**Tabla 8.**

*Concentración de epicatequina y catequina presentes en los encapsulados.*

| <b>Relación<br/>EP:AE</b> | <b>Encapsulante</b> | <b>Epicatequina<br/>[mg/gee]</b> | <b>Catequina<br/>[mg/gee]</b> |
|---------------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 1:3                       | Goma<br>Arábica     | 1.4529                           | 0.4732                        |
| 1:7                       |                     | 1.4753                           | 0.4524                        |
| 1:11                      |                     | 1.4649                           | 0.4427                        |
| 1:1                       | Alginato            | 1.4794                           | 0.4954                        |
| 1:2                       |                     | 1.4701                           | 0.4529                        |
| 1:3                       |                     | 1.4134                           | 0.4524                        |
| 1:1                       | Quitosano           | 1.5359                           | 0.4625                        |
| 1:2                       |                     | 1.4495                           | 0.4485                        |
| 1:3                       |                     | 1.4081                           | 0.4456                        |

En los resultados se evidencia una disminución general en la concentración de epicatequina y catequina en los encapsulados, en comparación con los niveles observados en el extracto polifenólico liofilizado (EP) usando HPLC/UV-vis: 2.151 mg/g de epicatequina y 0.605 mg/g de catequina.

Empleando quitosano y el alginato de sodio en la relación baja (1:1), se obtuvieron las concentraciones más altas de polifenoles. Para la epicatequina, las concentraciones fueron de 1.5359 y 1.4794 mg/gee, mientras que para la catequina fueron de 0.4625 y 0.4954 mg/gee, respectivamente para cada AE. Además, se visualiza una tendencia similar a la obtenida en los

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

resultados del contenido total de polifenoles, donde al incrementar la relación EP:AE disminuye la concentración de la epicatequina, catequina y concentración de polifenoles.

En los encapsulados de goma arábica se presentó una propensión diferente para estos grupos de polifenoles, donde la catequina mantiene el mismo comportamiento inverso de disminución al incrementar la relación EP:AE, siendo el más alto de 0.4732 mg/gee (relación de 1:3) y la epicatequina tiene un aumento en la relación media (1:7), en el cual se alcanza el mayor valor de 1.4753 mg/gee y disminuye en la relación alta (1:11).

### 5.3 Evaluación de la eficiencia y rendimiento de la encapsulación.

En esta fase se procede a la aplicación de las Ecuaciones 2, 3 y 4 (sección 4.3.1; 4.3.2 y 4.3.3) con las que se realizaron los cálculos de las variables: rendimiento, eficiencia de carga y eficiencia de encapsulamiento. Los resultados se muestran en la tabla 9.

**Tabla 9.**

*Resultados para las variables de rendimiento y eficiencia.*

| Relación EP:AE | Encapsulante | Eficiencia encapsulamiento | Rendimiento | Eficiencia Carga |
|----------------|--------------|----------------------------|-------------|------------------|
| 1:3            | Goma Arábica | 79.22%                     | 62.15%      | 34.77%           |
| 1:7            |              | 78.59%                     | 63.63%      | 18.99%           |
| 1:11           |              | 77.94%                     | 63.67%      | 25.72%           |
| 1:1            | Alginato     | 81.58%                     | 45.33%      | 17.57%           |
| 1:2            |              | 76.29%                     | 47.88%      | 20.75%           |
| 1:3            |              | 89.46%                     | 50.40%      | 26.04%           |
| 1:1            | Quitosano    | 77.61%                     | 45.75%      | 9.50%            |
| 1:2            |              | 82.79%                     | 54.15%      | 9.06%            |
| 1:3            |              | 89.38%                     | 52.38%      | 4.14%            |

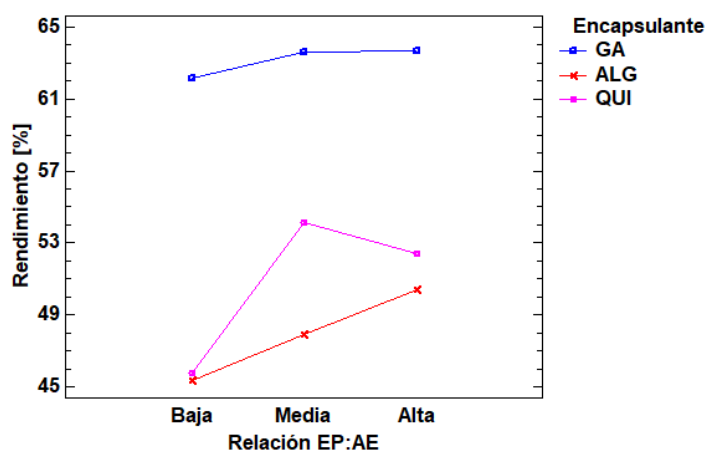
## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

## 5.3.1 Rendimiento de la operación

En la Figura 6, se presenta una gráfica que ilustra el comportamiento del rendimiento bajo diferentes condiciones operativas. Esta figura permite analizar el rendimiento del proceso en función de las variables: tipo de encapsulante y relación EP:AE.

**Figura 6.**

*Rendimiento de la operación discriminado por encapsulante y relación EP:AE.*



En esta se observa un aumento del rendimiento al incrementar la relación EP:AE tanto en la goma arábica como el alginato de sodio, al realizar el análisis estadístico se determinó que la desviación de rendimiento entre las diferentes relaciones para la goma arábica no es significativa. Finalmente, el quitosano presenta un máximo en la relación media, con resultados porcentuales similares a los obtenidos con el alginato de sodio.

Los mayores valores de rendimiento se obtuvieron para la relación alta de los encapsulantes: goma arábica (1:11) y alginato (1:3), en contraste, la relación media (1:2) es la que más favorece el rendimiento para el quitosano.

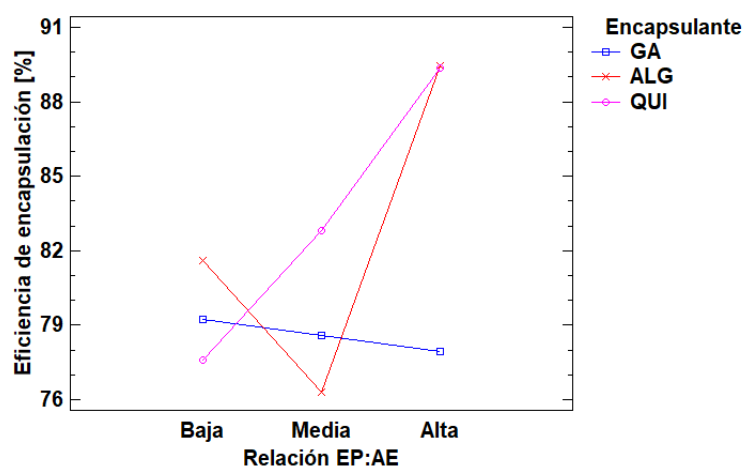
## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### 5.3.2 Eficiencia de encapsulamiento

En esta sección se presenta la gráfica de eficiencia de encapsulamiento (Figura 7), la cual es primordial para evaluar el impacto del cambio de encapsulante y la relación EP:AE en el proceso del secado, bajo condiciones controladas y para identificar los factores que favorecen la operación.

#### Figura 7.

*Eficiencia de encapsulamiento discriminado por encapsulante y relación EP:AE.*



La eficiencia de encapsulación muestra comportamientos divergentes entre los materiales estudiados. En el caso de la goma arábica y quitosano, se tienen tendencias completamente opuestas: en el primero, al aumentar la relación EP:AE disminuye el valor de la eficiencia, mientras que en el segundo ocurre lo contrario, al aumentar EP:AE, aumenta la eficiencia. En el alginato se presenta un mínimo en la relación media y un crecimiento mayor para la relación alta, siendo este el máximo dentro del rango estudiado.

El valor más alto de la eficiencia de encapsulamiento es logrado en la relación alta del alginato (1:3) con 89.46%, seguidamente con el quitosano se obtiene un 89.38% con la relación

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

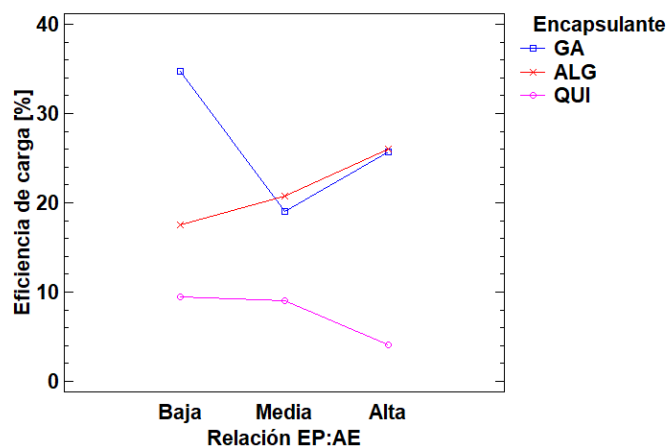
alta (1:3). En contraste, la goma arábica ocupa la quinta posición, con una eficiencia del 79.22% bajo la misma relación de 1:3.

### 5.3.3 Eficiencia de carga

A continuación (Figura 8) se exhibe el comportamiento de la eficiencia de carga de forma detallada, de manera que se pueda identificar el material y relación EP:AE que conducen a una mayor retención de polifenoles en las cápsulas.

#### Figura 8.

*Eficiencia de carga discriminado por encapsulante y relación EP:AE.*



En la Figura 8 se puede visualizar que la eficiencia de carga para el quitosano tiene un comportamiento inverso: al aumentar el EP:AE, disminuye el valor del parámetro. Como material, el alginato reporta una tendencia directa: el incremento de la relación EP:AE, incrementa el resultado de la variable. La goma arábica presenta un mínimo en el rango estudiado para la relación media (1:7).

En esta variable, el valor máximo dentro de todos los casos estudiados es de 34.77%, que se alcanza con la goma arábica en una relación baja (1:3). Le sigue el alginato, con un 26.04% en

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

una relación alta (1:3). En la sexta posición, se encuentra el quitosano, que logra un 9.50% en la relación 1:1 (valor máximo alcanzado en el rango de relaciones establecidas para el quitosano).

### 5.4 Selección de la relación EP:AE y encapsulante para maximizar las variables de respuesta

En la tabla 9 se resumen los resultados de los valores obtenidos para: eficiencia de encapsulación, eficiencia de carga y rendimiento. A continuación, se establece el comportamiento obtenido para cada variable, discriminando por tipo de encapsulante.

Con la goma arábica (relación 1:3) se alcanzan los valores máximos de eficiencia de encapsulamiento (79.22%) y eficiencia de carga (34.77%). La relación 1:11 muestra el mayor rendimiento con un 63.67%, sin embargo, la desviación entre los valores para este encapsulante no es significativa, por lo tanto, la relación AE:EP no tiene un efecto sobre el rendimiento. En investigaciones anteriores reportaron resultados similares trabajando con este encapsulante como: Nikolic et al. (2018) quienes obtuvieron valores de eficiencia de encapsulación entre 74.66 y 87.29% al encapsular un extracto de aronia negra con goma arábica, o Tolun et al. (2016) atomizaron un extracto de uva empleando goma arábica y maltodextrina en proporción (4:6) que resultó en valores entre 38.9 y 58.5%.

En el caso del alginato de sodio, se obtuvieron los máximos resultados en una relación 1:3, alcanzando una eficiencia de encapsulamiento del 89.46%, un rendimiento del 50.40% y una eficiencia de carga del 26.04%. Lauro et al. (2017) utilizaron alginato en una proporción de 1:3 para encapsular un extracto enriquecido en polifenoles de naranja sanguina, logrando un rendimiento de encapsulación del 60%, cercano al obtenido en el presente estudio. Por otra parte, Pasukamonset et al. (2016) encapsularon *Clitoria ternatea* con alginato obteniendo una eficiencia

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

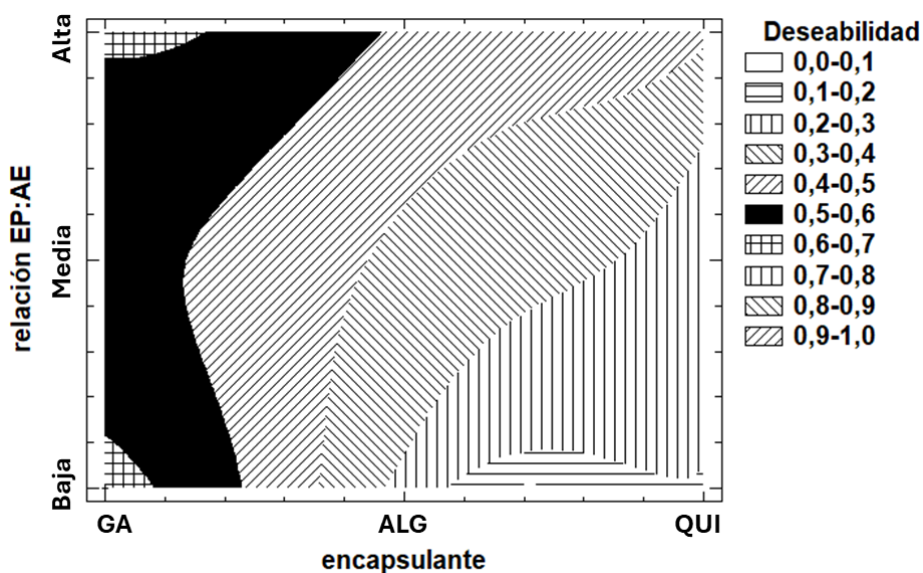
de encapsulación cercanas a las nuestras con un rango entre los valores  $74.17 \pm 0.83\%$  y  $84.87 \pm 0.29\%$

Usando quitosano se obtuvo una tendencia donde la mayor eficiencia de encapsulación se alcanzó en la relación 1:1 (89.23%), en la relación media se logró el mayor valor de rendimiento (54.15%) y eficiencia de carga (9.50%). Autores como Altin et al. (2018) obtuvieron una eficiencia de encapsulamiento menor con un valor del 73.6% al encapsular cáscara de cacao con quitosano como encapsulante. Estudios anteriores como el de Reis Pimenta et al. (2018), quien encapsuló el extracto polifenólico de cáscara de Jabuticaba con quitosano (1:6) resultando en un rendimiento que varió entre 29.63% a 37.65%.

Finalmente, a partir de los resultados obtenidos en las diferentes variables de respuesta, se realizó una optimización para múltiples variables y se generó la siguiente gráfica (Figura 9) para el rango de deseabilidad de los resultados.

**Figura 9.**

*Contornos para la superficie de respuesta estimada.*



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

A partir de una optimización cuyo objetivo es maximizar la eficiencia de encapsulación, la eficiencia de carga y el rendimiento, se busca que la relación AE:EP y el material de pared generen los valores más altos posibles. Cuantos mayores sean estos valores, mayor será la deseabilidad de esa combinación de variables. La gráfica muestra regiones que representan el valor de deseabilidad, calculado en función de los intervalos de valores obtenidos en la optimización.

Los mejores resultados para alginato y quitosano en esta optimización se encuentran en la relación alta (1:3) con una deseabilidad dentro del rango de 0.4-0.5. La mayor deseabilidad obtenida es el intervalo 0.6 - 0.7 correspondiente a la región de la goma arábiga con relaciones de 1:3 (baja) y 1:11 (alta). De estas, la relación 1:3 presentó el mayor porcentaje en la eficiencia de carga, variable crucial para la aplicación de las cápsulas en fortificación de alimentos, ya que determina la cantidad real de polifenoles retenidos en el material de encapsulación. Lograr una mayor eficiencia de carga permite una mayor concentración de polifenoles por cápsula, lo que reduce la cantidad total de cápsulas necesarias en la formulación. Esto contribuye en la disminución del riesgo de saturación en el producto final y a minimizar las alteraciones en las propiedades organolépticas.

### 6. Conclusiones

- El extracto liofilizado presentó un contenido considerable de polifenoles de  $90.47 \pm 12.87$  mg EAG/gel y alta capacidad antioxidante de  $1610.59 \pm 513.62$   $\mu\text{mol ET/g}$ , con la epicatequina como el compuesto predominante a una concentración en el intervalo de 2.191-2.738 mg/g.
- Las variables estudiadas muestran que la concentración y el tipo de encapsulante influyen significativamente en los resultados. El máximo rendimiento (63.67%) y eficiencia de

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

carga (34.77%) se obtuvieron con goma arábica a relaciones 1:11 y 1:3, respectivamente. Finalmente, la eficiencia de encapsulación más alta (89.46%) correspondió al alginato de sodio (1:3), destacado la importancia de la optimización del proceso.

- Aunque el alginato de sodio (1:3) y el quitosano (1:1) lograron valores competitivos en eficiencia de encapsulación y rendimiento, la optimización del proceso priorizó la goma arábica (1:3) como el encapsulante más adecuado. Esto se debe a su elevada eficiencia de carga y su prometedor rendimiento, el cual se encuentra solo un 1.52% por debajo del valor máximo alcanzado. Además, genera una eficiencia de encapsulación del 79.22%.
- La goma arábica en relación extracto polifenólico: agente encapsulante de 1:3 se determina como el material de pared óptimo para la microencapsulación de los polifenoles extraídos de cáscara de cacao CCN-51 mediante secado por aspersión, ya que optimiza el rendimiento, la eficiencia de carga y la eficiencia de encapsulación.

### 7. Recomendaciones

- Basándose en investigaciones que muestran una mejoría en variables como rendimiento y eficiencia de encapsulación al emplear mezclas de materiales de pared, se recomienda explorar combinación de diferentes agentes encapsulantes con la goma arábica con el fin de potenciar las propiedades de encapsulación.
- Se recomienda realizar las pruebas de HPLC/MS para los encapsulantes con el fin de obtener un perfil polifenólico más detallado y cuantificaciones con mayor precisión.

**Referencias bibliográficas**

- Agüera Bolea, M. Del C. (2017). *Efecto de un suplemento de polifenoles y cafeína sobre la composición corporal, calidad de vida, sueño y estado del ánimo en adultos con sobrepeso y obesidad* [phd]. Universidad Católica de Murcia.
- Ahmad, S., & Al-Shabib, N. A. (2020). Functional Food Products and Sustainable Health. En *Functional Food Products and Sustainable Health*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4716-4>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Alejandro Cáceres-Roa, S., Javier López-Giraldo, L., & Jesús Muvdi-Nova, C. (2023). Extracción de polifenoles: una comparación a partir de cáscara de cacao húmeda vs cáscara de cacao secada Polyphenol extraction: a comparison from wet cocoa husk vs. Dried cocoa husk. *Ingeniería y Competitividad*, 25(2), 20612223. <https://doi.org/10.25100/iyc.25i2>
- Altin, G., Gültekin-Özgülven, M., & Ozcelik, B. (2018). Chitosan coated liposome dispersions loaded with cacao hull waste extract: Effect of spray drying on physico-chemical stability and in vitro bioaccessibility. *Journal of Food Engineering*, 223, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.005>
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90, 1–81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

- Angarita Dávila, L. C. (2016). *Valoración del índice glicémico, carga glicémica e insulínica de fórmulas enterales y con adición de fibra para diabéticos en adultos sanos y con diabetes mellitus tipo 2.*
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Arroyo Lobo, J. L. (2015). *Conservación de alimentos mediante microencapsulación por emulsificación* [Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/7abf7cbe-4a65-4018-ab76-60485c41b714/content>
- Bazinet, L., & Doyen, A. (2017). Antioxidants, mechanisms, and recovery by membrane processes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(4), 677–700. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.912609>
- Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J. M., Acuña-Nelson, S., & Muñoz-Fariña, O. (2023). Effect of choline chloride-based deep eutectic solvents on polyphenols extraction from cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean shells and antioxidant activity of extracts. *Current Research in Food Science*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100614>
- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., & Oomah, B. D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Pod husk: Renewable source of bioactive compounds. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 81, pp. 172–184). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.022>

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

- Ciprián Jiménez, M. (2020). *Aplicación de la cáscara del grano de cacao (Theobroma cacao L.) Como fuente de flavonoides en productos a base de cereales: Revisión de literatura*. Escuela Agrícola Panamericana.
- Da Silva Carvalho, A. G., da Costa Machado, M. T., de Freitas Queiroz Barros, H. D., Cazarin, C. B. B., Maróstica Junior, M. R., & Hubinger, M. D. (2019). Anthocyanins from jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract carried by calcium alginate beads pre-prepared using ionic gelation. *Powder Technology*, 345, 283–291. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.01.016>
- Da Silva Júnior, M. E., Araújo, M. V. R. L., Martins, A. C. S., dos Santos Lima, M., da Silva, F. L. H., Converti, A., & Maciel, M. I. S. (2023). Microencapsulation by spray-drying and freeze-drying of extract of phenolic compounds obtained from ciriguela peel. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40390-4>
- Darío López, O. H., Márquez, T. C., Mayo, O. A., Toledo, C. S., & Pérez, E. S. (2009). Características del Aceite de Semillas de Cucurbita pepo L. Microencapsulado mediante Secado por Aspersión con Maltodextrina y Goma Arábica. *Am. J. Pharm*, 28(4), 628–660.
- Díaz-Montes, E. (2023). Wall Materials for Encapsulating Bioactive Compounds via Spray-Drying: A Review. En *Polymers* (Vol. 15, Número 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/polym15122659>
- Dobrinas, S., Soceanu, A., Popescu, V., Carazeanu Popovici, I., & Jitariu, D. (2021). Relationship between total phenolic content, antioxidant capacity, fe and cu content from tea plant samples at different brewing times. *Processes*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/pr9081311>
- Duque Acevedo, C., Caballero Pérez, L., & Rivera, M. E. (2020). TEMPERATURE EFFECT ON THE POLYPHENOLS OF REFINED AND MIXED PROCESS OF A WHITE

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

CHOCOLATE. *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, 2(36).

<https://doi.org/10.24054/16927257.v36.n36.2020.3711>

Espinosa Manrique, W., Garzón Salcedo, L., & Medina Vargas, O. (2016). Validación de una metodología analítica para la cuantificación de polifenoles totales, en procesos de extracción asistida por microondas sobre frutos de la especie colombiana *Vaccinium meridionale*. *Revista colombiana en ciencias químicas farmacéuticas*, 45(1), 109–126.

Federación Nacional de Cacaoteros. (2023). *Producción Nacional de Cacao 2013 - 2023*.

Fernanda González Arias, L., Arcila Ospina, M., Juanita Gómez Malaver, M., & Trujillo Jácome, N. (2021). Evaluación del comportamiento de la harina de cáscara de mazorca de cacao en la elaboración de dos productos alimenticios Evaluation of the behavior of cocoa pod husk flour in the elaboration of two food products. *REVISTA DEL SISTEMA DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN*, 61–67.

<https://doi.org/https://doi.org/10.23850/23899573.4257>

García-Amezquita, L. E., Welti-Chanes, J., Vergara-Balderas, F. T., & Bermúdez-Aguirre, D. (2015). Freeze-drying: The Basic Process. En *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 104–109). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00328-7>

Gil Quintero, J. A. (2012). *Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacaos colombianos durante los procesos de pre e industrialización* (Tesis de maestría, Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica). Medellín. Pp. 91-94.

Gómez, B., Barba, F. J., Domínguez, R., Bursac Kovačević, D., Pateiro, M., Toldrá, F., & Lorenzo, J. M. (2018). Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and 2 its specific application in meat processing. *Trends Food Science Technol*, 135–147.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

- González-González, M., Chong-Canto, S., Cruz-Gorostieta, Y. A., Ruiz-Palma, M. S., & Cerón-Montes, G. I. (2022). Evaluación de nano secado por aspersión a alta concentración de alimentación. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(7), 172–177. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10iespecial7.9836>
- Grassia, M., Messia, M. C., Marconi, E., Şakiyan Demirkol, & Ö, Erdoğan, F., Sarghini, F., Cinquanta, & L., Corona, & O., & Planeta, & D. (2021). Microencapsulation of Phenolic Extracts from Cocoa Shells to Enrich Chocolate Bars. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 449–457. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00917-4/Published>
- Hasnain, M. S., Jameel, E., Mohanta, B., Dhara, A. K., Alkahtani, S., & Nayak, A. K. (2020). Alginates: Sources, structure, and properties. En *Alginates in Drug Delivery* (pp. 1–17). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817640-5.00001-7>
- Ibarra Cabrera, C. A. (2018). *Optimización del proceso de extracción por ultrasonido de polifenoles en grano, cuantificación y determinación de su capacidad antioxidante en materiales de cacao regionales de Nariño*. Universidad de Nariño.
- Kothe, L., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, 141(4), 3656–3663. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.06.049
- Lauro, M. R., Crascì, L., Giannone, V., Ballistreri, G., Fabroni, S., Sansone, F., Rapisarda, P., Panico, A. M., & Puglisi, G. (2017). An Alginate/Cyclodextrin Spray Drying Matrix to Improve Shelf Life and Antioxidant Efficiency of a Blood Orange By-Product Extract Rich in Polyphenols: mmps Inhibition and Antiglycation Activity in Dysmetabolic Diseases. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

López Velasco, D. M., & Sabogal Forero, O. J. (2018). Gomas empleadas en la industria de alimentos. *Revista de Investigaciones Carmenta*, 1(1), 46.

Michel Barba, M. G. (2018). *Encapsulación de compuestos fenólicos de Vaccinium corymbosum a través del desarrollo de matrices biopoliméricas y su efecto en la modulación de la microbiota intestinal humana* [Doctorado]. Centro de Investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco.

Muñoz, W., Chavez, W., Pabón, L. C., Rendón, M. R., Patricia-Chaparro, M., & Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 46, 38–46.

Nguyen, V. T., Huynh, T., Tran, N., & Pham, C. A. (2024). *Utilization of cocoa pod husk (Theobroma cacao L.) For production of microencapsulated powder rich in alkaloids*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4019815/v1>

Nikolic, N. C., Stanisavljevic, N., Šavikin, K., Kaluševic, A., Nedovic, V., Bigovic, D., & Jankovic, T. (2018). Application of gum Arabic in the production of spray-dried chokeberry polyphenols, microparticles characterisation and in vitro digestion method. *Lekovite Sirovine*, 38, 14. <https://doi.org/10.1364/leksir1838009c>

Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias de Alencar, S., Thomazini, M., de Camargo Balieiro, J. C., & Contreras Castillo, C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT*, 44(2), 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010>

Novoveská, L., Ross, M. E., Stanley, M. S., Pradelles, R., Wasiolek, V., & Sassi, J. F. (2019). Microalgal carotenoids: A review of production, current markets, regulations, and future direction. En *Marine Drugs* (Vol. 17, Número 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/md17110640>

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

- Ordoñez, E. S., Leon-Arevalo, A., Rivera-Rojas, H., & Vargas, E. (2019). Quantification of total polyphenols and antioxidant capacity in skins and seeds from cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), grape (*Vitis Vinífera*) and uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). *Scientia Agropecuaria*, *10*(2), 175–183. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.02>
- Pacheco Párraga, C. N., & Topanta Quishpe, J. M. (2022). *Microencapsulación de un extracto de eneldo (*Anethum graveolens*) mediante secado por aspersión* [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/9357>
- Pasukamonset, P., Kwon, O., & Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, *61*, 772–779. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.039>
- Peñaranda Huerta, C. Isabel. (2019). *Influencia del secado por atomización de mucílago de cacao (*theobroma cacao* l.) En el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante*.
- Pico-Hernández, S. M., Murillo-Méndez, C. J., & López-Giraldo, L. J. (2020). Extraction, separation, and evaluation of antioxidant effect of the different fractions of polyphenols from cocoa beans. *Revista Colombiana de Química*, *49*(3), 19–27. <https://doi.org/10.15446/rcq.v49n3.84082>
- Poveda Arias, J. (2018). Quitina: compuesto natural y práctico. *Investigación Joven*, *5*(1).
- Pulido, A., & Beristain, C. I. (2010). Encapsulación de ácido ascórbico mediante secado por aspersión, utilizando quitosano como material de pared. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *9*(2), 189–195. [www.amidiq.com](http://www.amidiq.com)
- Quiroga Ruiz, Y., & Herrera Sánchez, D. A. (2019). *Efecto de la adición de polifenoles sobre las características químicas y sensoriales de un chocolate*. Universidad Industrial de Santander.

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES**

- Rachmawaty, Mu’Nisa, A., Hasri, Pagarra, H., & Hartati. (2019). Analysis of phenolic content and antioxidant activity of cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1317(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1317/1/012087>
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids*, 51, 327–337. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.033>
- Ramírez, M. J., Giraldo, G. I., & Orrego, C. E. (2015). Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder Technology*, 277, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.02.060>
- Reis Pimenta, B. C., Martins de Oliveira, P., Martins Gelfuso, G., Cardoso Quintão, T. De S., Chaker, J. A., de Oliveira Karnikowski, M. G., & Fortes Gris, E. (2018). Improving stability of antioxidant compounds from *Plinia cauliflora* (jaboticaba) fruit peel extract by encapsulation in chitosan microparticles. *Journal of Food Engineering*, 238, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.004>
- Rendón Galindo, G. M., Báez González, J. G., Alanís Guzmán, Ma. G., Regalado - Méndez, A., Galindo Rodríguez, S., & Vernon - Carter, E. J. (2010). *Eficiencia de encapsulación del aceite de linaza utilizando goma de mezquite y quitosano como materiales de pared.*
- Rha, C. S., Choi, Y. M., Kim, J. C., & Kim, D. O. (2021). Cost-effective simultaneous separation and quantification of phenolics in green and processed tea using HPLC–UV–ESI single-quadrupole MS detector and python script. *Separations*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/separations8040045>

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

- Ribeiro, A. M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2019). Spray Drying Encapsulation of Elderberry Extract and Evaluating the Release and Stability of Phenolic Compounds in Encapsulated Powders. *Food and Bioprocess Technology*, 12(8), 1381–1394. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02304-z>
- Rios-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. *Tecnológicas*, 24(51). <https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Salgado Padilla, J. D. (2020). *Una revisión de la Microencapsulación de compuestos polifenólicos en la industria alimentaria y farmacéutica [Tesis de Pregrado]*. Universidad de Cartagena.
- Sarria Villa, R. A., Gallo Corredor, J. A., & Benítez Benítez, R. (2021). Extracción de compuestos fenólicos y contenido de catequina en cortezas de tres especies forestales del Cauca-Colombia. *Entre ciencia e ingeniería*, 15(29), 19–27. <https://doi.org/10.31908/19098367.2622>
- Sosnik, A., & Seremeta, K. P. (2015). Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. En *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 223, pp. 40–54). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.05.003>
- Sotelo C., L., Alvis B., A., & Arrázola P., G. (2015). Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), determinación de su capacidad antioxidante. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(1), 124. <https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i1.3751>
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

- characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001>
- Toro Uribe, S. (2018). *Encapsulation of Antioxidants from theobroma Cacao L. For food applications: in vitro Bioaccessibility and Kinetic release profile* [phd]. Universidad Industrial de Santander.
- Urbańska, B., & Kowalska, J. (2019). Comparison of the total polyphenol content and antioxidant activity of chocolate obtained from roasted and unroasted cocoa beans from different regions of the world. *Antioxidants*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/antiox8080283>
- Valeriano Tonon, R. (2009). *Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto*. Universidade estadual de campinas .
- Vargas-Munévar, L., Borja-Fajardo, J., Sandoval-Aldana, A., García, W. Q., Moreno, E. M., Henriquez, J. C., Stashenko, E., García, L. T., & García-Beltrán, O. (2024). Microencapsulation of Theobroma cacao L polyphenols: A high-value approach with in vitro anti-Trypanosoma cruzi, immunomodulatory and antioxidant activities. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 173. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116307>
- Vázquez-Ovando, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Betancur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239–254.
- Villamizar-Jaimes, A. R., & López-Giraldo, L. J. (2017). Cáscara de cacao fuente de polifenoles y fibra: simulación de una planta piloto para su extracción. *Respuestas*, 22(1), 75–83.  
<https://doi.org/10.22463/0122820x.821>

**EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES**

Wong-Paz, J. E., Guyot, S., Aguilar-Zárate, P., Muñiz-Márquez, D. B., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2021). Structural characterization of native and oxidized procyanidins (condensed tannins) from coffee pulp (*Coffea arabica*) using phloroglucinolysis and thioglycolysis-HPLC-ESI-MS. *Food Chemistry*, 340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127830>

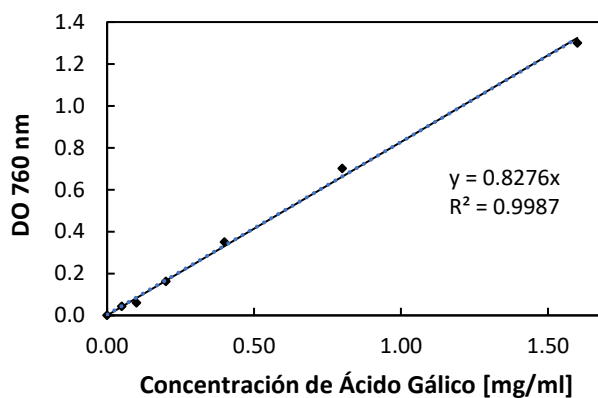
Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Alberto Rojano, B. (2015). Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7497–7507. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47836>

Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Benjamín Alberto Rojano, C. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano Effect of fermentation on the antioxidant activity of different Colombian cocoa clones. En *Revista Cubana de Plantas Medicinales* (Vol. 18, Número 3). [Http://scielo.sld.cu](http://scielo.sld.cu)

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

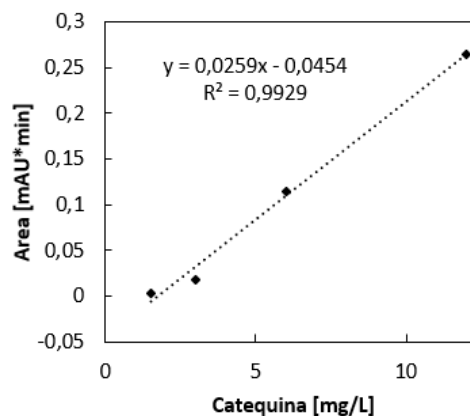
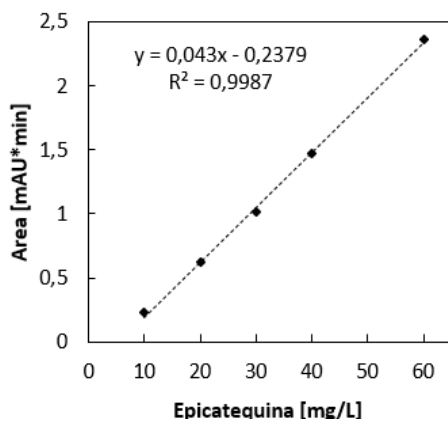
## Apéndices

## Apéndice A. Curva de calibración con ácido gálico



Al compuesto se le aplicó la prueba de Folin-Ciocalteu, con la micropipeta se depositan 50  $\mu$ l del ácido gálico, 1.5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 10 veces en agua destilada) y 1.5 ml de solución de carbonato de sodio (7.5% p/v) en un tubo de ensayo, esta solución es mezclada en vórtex y se deja reposar por 60 min en un ambiente oscuro (esta prueba fue realizada por duplicado). A la mezcla se le midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro.

## Apéndice B. Curvas de calibración para epicatequina y catequina.



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

A partir de los cromatogramas obtenidos para cada una de las muestras de cápsulas, se calcula un área bajo la curva, que representa la cantidad de analito presente en la muestra. El tiempo de retención para la catequina es de 6.35 min y para la epicatequina es de 13.35 min.

### **Apéndice C. Descripción metodología del HPLC/MS por CROM-MASS.**

Para la preparación de la muestra se disolvieron 0.2 g de extracto liofilizado en 10 ml de agua tipo I, posteriormente se almacenó en un frasco de vidrio ámbar para evitar la exposición a la luz y fue enviado al laboratorio en condiciones de refrigeración.

En los resultados se reporta que la muestra se disolvió en una mezcla de metanol: agua (1:1 v/v) con ácido fórmico 0.2% v/v, se agitó en vórtice por 5 min y se realizó una sonicación por 5 min, posteriormente se procedió con la inyección al equipo cromatográfico.

El equipo es un cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiencia (UHPLC), Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), equipado con una bomba binaria de gradiente (HP G3400RS), un inyector automático de muestras (WPS 300TRS) y una unidad termostada para la columna (TCC 3000).

La interfaz del análisis LC-MS fue la electronebulización (ESI) y el espectrómetro de masas fue de alta resolución y contaba sistema de detección de corrientes de iones Orbitrap, operando en modo positivo con un voltaje de capilar de 3.5 kv.

Para identificar los compuestos se empleó el modo de adquisición full scan y la extracción de corrientes iónicas correspondientes a las moléculas protonadas  $[M+H]^+$  de los compuestos de interés, la medición de masas fue con exactitud y precisión de  $\Delta ppm < 1$ . Se realizó una revisión de las relaciones isotópicas y patrones de fragmentación. Para la cuantificación de los analitos de interés se emplearon las curvas de calibración en base a los materiales de referencia certificados.

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### Apéndice D. Descripción metodología del HPLC/UV-vis

Se empleó el método por Quiroga Ruiz & Herrera Sánchez (2019), para cada uno de los 12 lotes se realizó por duplicado. Para la preparación de la muestra se tomaron 0.02 g de extracto liofilizado del lote y se disolvieron en 5 ml de una solución formada por 85% de ácido acético al 0.3% y 15% de metanol, se colocaron en vórtex y posteriormente se usaron filtros PDVF de 0.45  $\mu\text{m}$  para depositar la solución resultante en viales de vidrio ámbar de 1 ml.

La identificación de: (i) monómeros, (ii) dímeros y (iii) oligómeros presentes en el extracto se llevó a cabo utilizando un LC/MS de trampa de iones (modelo 6320, Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) ubicado en el laboratorio del grupo de investigación de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA).

### Apéndice E. Perfil de polifenoles por HPLC/UV-Vis para los extractos

Lote 1 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.308                 | 0.000           | 0.175         | 0.05               | 3.81                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.275                | 0.368           | 3.062         | 53.94              | 66.83                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.842                | 0.314           | 1.345         | 46.01              | 29.36                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.683</b>    | <b>4.582</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |
| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.129                 | 0.020           | 0.114         | 2.28               | 2.73                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.548           | 2.782         | 62.64              | 66.51                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.833                | 0.307           | 1.286         | 35.09              | 30.75                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.875</b>    | <b>4.182</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

Lote 2 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.321                 | 0.033           | 0.228         | 2.47               | 3.80                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.841           | 3.706         | 62.13              | 61.76                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.833                | 0.479           | 2.066         | 35.39              | 34.43                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>1.354</b>    | <b>6.000</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.329                 | 0.036           | 0.299         | 1.72               | 3.44                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.717                 | 0.073           | 0.253         | 3.47               | 2.91                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.262                | 1.266           | 4.996         | 60.09              | 57.54                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.829                | 0.732           | 3.135         | 34.71              | 36.11                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>2.107</b>    | <b>8.683</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

Lote 3 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.333                 | 0.004           | 0.082         | 0.40               | 2.05                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.604           | 2.631         | 66.24              | 65.68                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.833                | 0.304           | 1.293         | 33.36              | 32.27                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.912</b>    | <b>4.006</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.317                 | 0.023           | 0.147         | 2.38               | 3.37                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.567           | 2.574         | 59.16              | 59.20                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.833                | 0.369           | 1.627         | 38.46              | 37.43                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.958</b>    | <b>4.348</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

Lote 4 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.325                 | 0.004           | 0.073         | 0.56               | 1.96                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.499           | 2.553         | 65.60              | 68.56                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.837                | 0.258           | 1.098         | 33.85              | 29.48                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.761</b>    | <b>3.724</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.487                 | 0.005           | 0.000         | 0.46               | 0.00                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Epicatequina      | 13.267                | 0.593           | 2.821         | 59.06              | 62.17                | n.a.   |
| 3                   | B-1               | 13.833                | 0.407           | 1.717         | 40.48              | 37.83                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>1.005</b>    | <b>4.538</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

*Lote 5 (por duplicado).*

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.296                 | 0.021           | 0.101         | 9.17               | 5.68                 | n.a.   |
| 2                   | B-1               | 8.229                 | 0.034           | 0.015         | 14.56              | 0.85                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Procianidinas B-2 | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.354                | 0.161           | 1.437         | 69.52              | 80.70                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.737                | 0.016           | 0.228         | 6.75               | 12.77                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.232</b>    | <b>1.781</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.308                 | 0.021           | 0.104         | 5.43               | 4.66                 | n.a.   |
| 2                   | B-1               | 8.229                 | 0.057           | 0.036         | 14.77              | 1.60                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 3                   | Procianidinas B-2 | 9.883                 | 0.028           | 0.123         | 7.33               | 5.48                 | n.a.   |
| 4                   | Epicatequina      | 13.350                | 0.280           | 1.980         | 72.46              | 88.26                | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.387</b>    | <b>2.243</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

*Lote 6 (por duplicado).*

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.404                 | 0.023           | 0.063         | 12.06              | 8.30                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeína           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.596                 | 0.017           | 0.104         | 9.03               | 13.79                | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.354                | 0.149           | 0.587         | 78.91              | 77.90                | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.189</b>    | <b>0.753</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.425                 | 0.016           | 0.041         | 8.92               | 5.34                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.592                 | 0.009           | 0.086         | 5.03               | 11.13                | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.362                | 0.129           | 0.547         | 72.13              | 70.93                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.842                | 0.025           | 0.097         | 13.91              | 12.59                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.179</b>    | <b>0.771</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

Lote 7 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.412                 | 0.020           | 0.054         | 9.25               | 5.82                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.596                 | 0.018           | 0.121         | 8.40               | 13.01                | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.358                | 0.149           | 0.676         | 69.81              | 72.54                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.846                | 0.027           | 0.080         | 12.54              | 8.62                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.213</b>    | <b>0.932</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.383                 | 0.017           | 0.051         | 8.64               | 5.56                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.583                 | 0.016           | 0.113         | 8.35               | 12.25                | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.358                | 0.130           | 0.638         | 67.05              | 69.33                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.958                | 0.031           | 0.118         | 15.96              | 12.86                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.194</b>    | <b>0.920</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

Lote 8 (por duplicado).

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.367                 | 0.018           | 0.064         | 6.82               | 4.43                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.904                 | 0.018           | 0.125         | 6.95               | 8.60                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.342                | 0.222           | 1.214         | 85.92              | 83.62                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.696                | 0.001           | 0.049         | 0.31               | 3.35                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.258</b>    | <b>1.452</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.317                 | 0.019           | 0.083         | 5.86               | 4.80                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.887                 | 0.019           | 0.116         | 5.90               | 6.69                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.337                | 0.244           | 1.305         | 76.88              | 75.59                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.954                | 0.036           | 0.223         | 11.36              | 12.92                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.317</b>    | <b>1.726</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

*Lote 9 (por duplicado).*

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.387                 | 0.011           | 0.044         | 5.38               | 4.66                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.875                 | 0.002           | 0.072         | 0.92               | 7.71                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.342                | 0.164           | 0.745         | 82.84              | 79.47                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.862                | 0.021           | 0.077         | 10.87              | 8.16                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.198</b>    | <b>0.938</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.367                 | 0.015           | 0.060         | 6.31               | 5.55                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.912                 | 0.006           | 0.071         | 2.46               | 6.53                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.346                | 0.164           | 0.769         | 70.85              | 70.96                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.929                | 0.047           | 0.184         | 20.37              | 16.96                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.231</b>    | <b>1.084</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

*Lote 10 (por duplicado).*

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.404                 | 0.014           | 0.043         | 6.18               | 3.71                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.912                 | 0.013           | 0.092         | 5.95               | 7.92                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.337                | 0.177           | 0.949         | 80.55              | 81.52                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.929                | 0.016           | 0.080         | 7.32               | 6.85                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.219</b>    | <b>1.164</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.292                 | 0.022           | 0.103         | 9.66               | 7.40                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.908                 | 0.006           | 0.074         | 2.83               | 5.32                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.337                | 0.124           | 0.829         | 54.62              | 59.64                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.933                | 0.074           | 0.384         | 32.89              | 27.64                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.226</b>    | <b>1.389</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

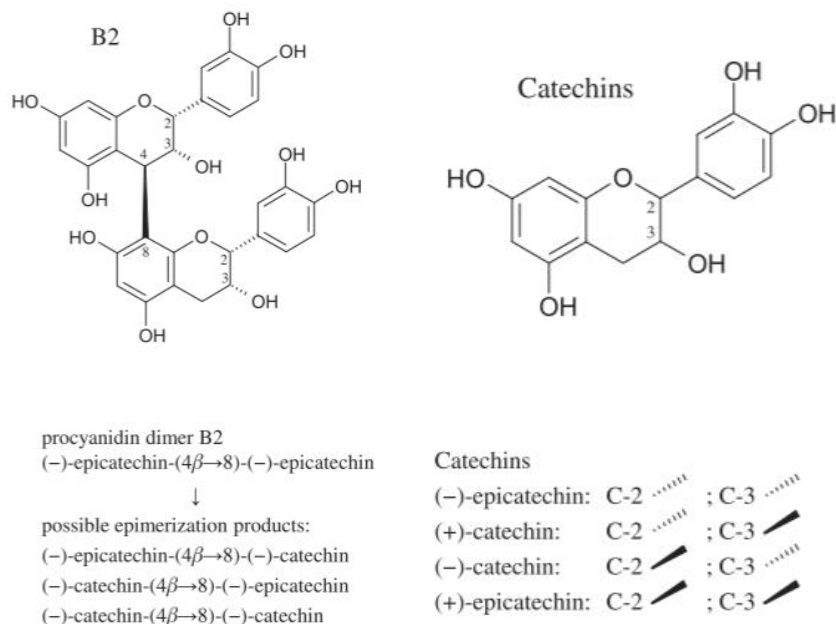
*Lote 11 (por duplicado).*

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.375                 | 0.014           | 0.051         | 6.34               | 4.68                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.900                 | 0.004           | 0.080         | 1.78               | 7.33                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.329                | 0.182           | 0.882         | 82.41              | 80.91                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.962                | 0.021           | 0.077         | 9.46               | 7.08                 | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.221</b>    | <b>1.091</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

| Integration Results |                   |                       |                 |               |                    |                      |        |
|---------------------|-------------------|-----------------------|-----------------|---------------|--------------------|----------------------|--------|
| No.                 | Peak Name         | Retention Time<br>min | Area<br>mAU*min | Height<br>mAU | Relative Area<br>% | Relative Height<br>% | Amount |
| n.a.                | Teobromina        | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 1                   | Catequina         | 6.383                 | 0.024           | 0.070         | 9.15               | 5.53                 | n.a.   |
| n.a.                | B-1               | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| n.a.                | Cafeina           | n.a.                  | n.a.            | n.a.          | n.a.               | n.a.                 | n.a.   |
| 2                   | Procianidinas B-2 | 9.546                 | 0.002           | 0.084         | 0.74               | 6.68                 | n.a.   |
| 3                   | Epicatequina      | 13.346                | 0.177           | 0.861         | 68.23              | 68.50                | n.a.   |
| 4                   | B-1               | 13.937                | 0.057           | 0.242         | 21.88              | 19.29                | n.a.   |
| <b>Total:</b>       |                   |                       | <b>0.259</b>    | <b>1.257</b>  | <b>100.00</b>      | <b>100.00</b>        |        |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENÓLES

**Apéndice F. Configuraciones estereoquímicas de las catequinas y procianidina B2, con los posibles productos de epimerización.**



Nota. Adaptado de Kothe, L., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, 141(4), 3656–3663. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.06.049

Se postuló que los cambios en la configuración estereoespecífica de la procianidina B2 están restringidos a las posiciones C-2 (no existe información sobre cambios en la configuración de los otros estereocentros). Bajo este contexto, la epimerización podría ocurrir en dos posiciones de los dímeros de procianidina, generando así tres productos epiméricos potenciales por cada dímero.

En el caso de las catequinas (con centro quiral en la posición 2), se favorece la absorción del isómero (+) en comparación con el isómero (-) y el epímero más común en que esta puede transformarse es la epicatequina (esta situación es igual de manera inversa).

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

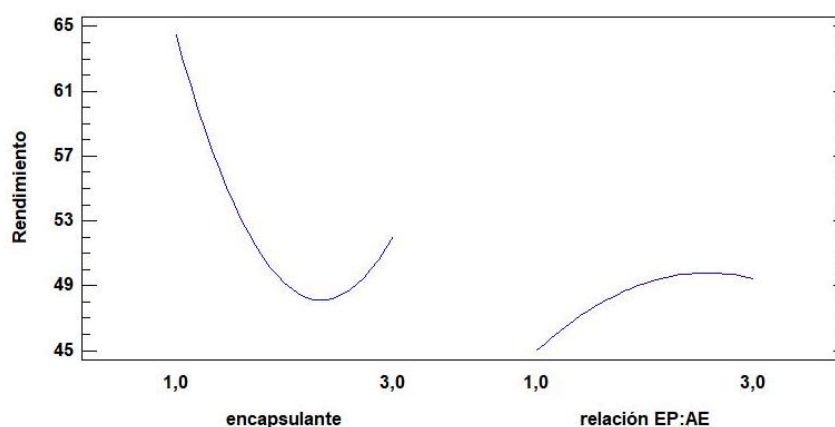
### Apéndice G. Análisis de varianza para el rendimiento de secado.

| Fuente           | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A:encapsulante   | 460,784           | 1  | 460,784        | 32,16   | 0,0001  |
| B:relación EP:AE | 58,3002           | 1  | 58,3002        | 4,07    | 0,0666  |
| AA               | 330,27            | 1  | 330,27         | 23,05   | 0,0004  |
| AB               | 13,0816           | 1  | 13,0816        | 0,91    | 0,3582  |
| BB               | 15,0673           | 1  | 15,0673        | 1,05    | 0,3254  |
| Error total      | 171,927           | 12 | 14,3272        |         |         |
| Total (corr.)    | 1049,43           | 17 |                |         |         |

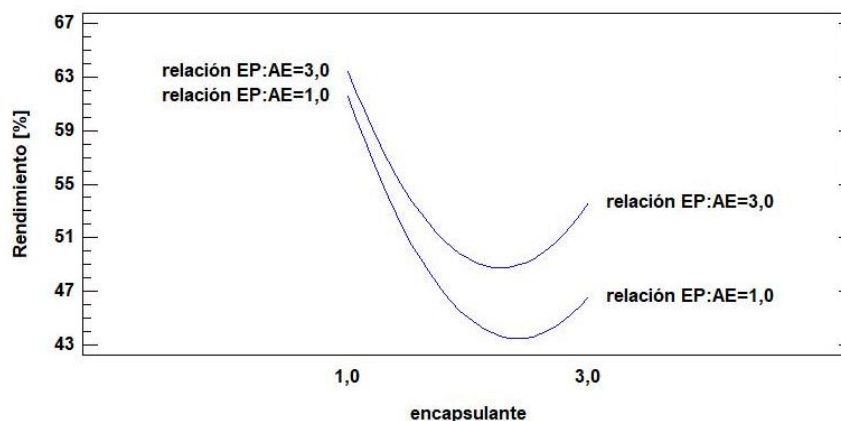
Al realizar el análisis de varianza para la variable del rendimiento para secado por aspersión se estudió la variabilidad de este en piezas separadas para la evaluación de cada uno de sus efectos, donde 2 efectos tienen un valor P menor que 0.05 (nivel de confianza del 95 %).

Se obtuvo un R<sup>2</sup> de 76.791% el cual es adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, se obtuvo un valor P mayor que el 5%, lo cual indica que no hay autocorrelación serial entre los residuos con un nivel de significancia del 5 %.

#### Gráfica de efectos principales para rendimiento de secado



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

*Gráfica de interacción para rendimiento de secado.*

Los mejores valores de rendimiento se obtienen para la goma arábica con relación EP:AE de 1:11, siendo los mínimos los del alginato y con valores intermedios para el quitosano, un comportamiento evidenciado es que para la mayor relación de cada encapsulante se tienen los mayores valores.

*Valores óptimos para la maximizar el rendimiento de secado.*

| <i>Factor</i>  | <i>Bajo</i> | <i>Alto</i> | <i>Óptimo</i> |
|----------------|-------------|-------------|---------------|
| Encapsulante   | 1.0         | 3.0         | 1.0           |
| Relación EP:AE | 1.0         | 3.0         | 2.23822       |

*Análisis de varianza para el rendimiento de secado – Suma de cuadrados tipo III.*

| <i>Fuente</i>               | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Valor-P</i> |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| <b>EFFECTOS PRINCIPALES</b> |                          |           |                       |                |                |
| A:encapsulante              | 790,889                  | 2         | 395,445               | 23,55          | 0,0003         |
| B:Relación EP:AE            | 73,3659                  | 2         | 36,683                | 2,18           | 0,1685         |
| <b>INTERACCIONES</b>        |                          |           |                       |                |                |
| AB                          | 33,7976                  | 4         | 8,44941               | 0,50           | 0,7349         |
| RESIDUOS                    | 151,147                  | 9         | 16,7941               |                |                |
| TOTAL (CORREGIDO)           | 1049,2                   | 17        |                       |                |                |

## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

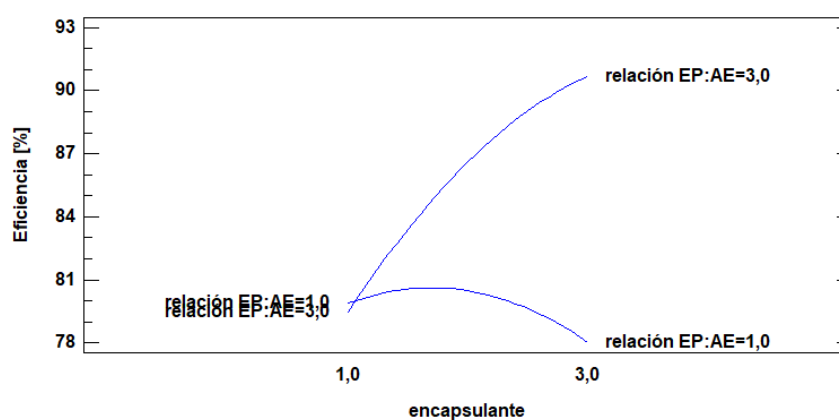
Debido a que un valor P es menor a 0.05 este factor (encapsulante) tiene un efecto significativo sobre el rendimiento del secado por aspersión con un 95.0% de nivel de confianza.

### Apéndice H. Análisis de varianza para la eficiencia de encapsulación.

| Fuente           | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A:encapsulante   | 65,6136           | 1  | 65,6136        | 3,45    | 0,0881  |
| B:relación EP:AE | 112,547           | 1  | 112,547        | 5,91    | 0,0317  |
| AA               | 9,3025            | 1  | 9,3025         | 0,49    | 0,4979  |
| AB               | 85,1513           | 1  | 85,1513        | 4,47    | 0,0560  |
| BB               | 43,7582           | 1  | 43,7582        | 2,30    | 0,1554  |
| Error total      | 228,469           | 12 | 19,0391        |         |         |
| Total (corr.)    | 544,841           | 17 |                |         |         |

En este caso un efecto tiene un valor P menos que 0.05 ya que estos son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.00 %, el estadístico R2 indica que el modelo ajustado de esa manera explica el 58.0669 % de la variabilidad en la eficiencia para la operación. La desviación estándar de los residuos es de 4.3634, en conclusión, debido a que el valor P es mayor al 5.0% no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%

### Gráfica de efectos principales para eficiencia de encapsulación.



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

### *Análisis de varianza para la eficiencia de encapsulación– Suma de cuadrados tipo III.*

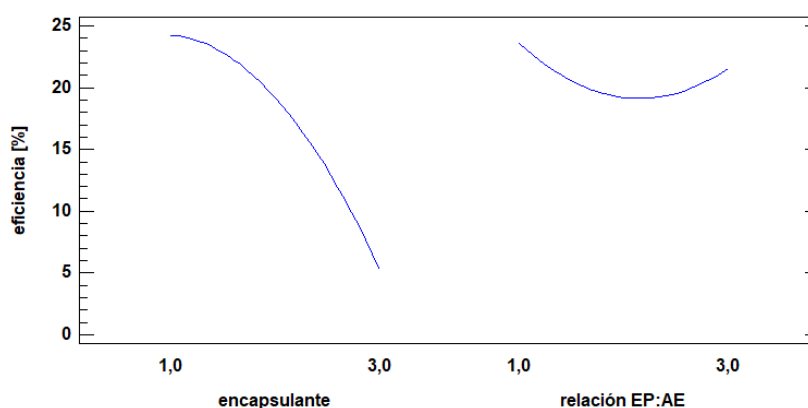
| Fuente                     | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| <b>EFECTOS PRINCIPALES</b> |                   |    |                |         |         |
| A:encapsulante             | 74,8856           | 2  | 37,4428        | 2,20    | 0,1671  |
| B:Relación EP:AE           | 156,139           | 2  | 78,0695        | 4,58    | 0,0424  |
| <b>INTERACCIONES</b>       |                   |    |                |         |         |
| AB                         | 160,404           | 4  | 40,101         | 2,35    | 0,1317  |
| RESIDUOS                   | 153,373           | 9  | 17,0415        |         |         |
| TOTAL (CORREGIDO)          | 544,802           | 17 |                |         |         |

Debido a que un valor P es menor al 0.05 del factor Relación EP:AE, tiene un factor estadísticamente significativo sobre la eficiencia del secado por aspersión con un 95.0% de nivel de confianza.

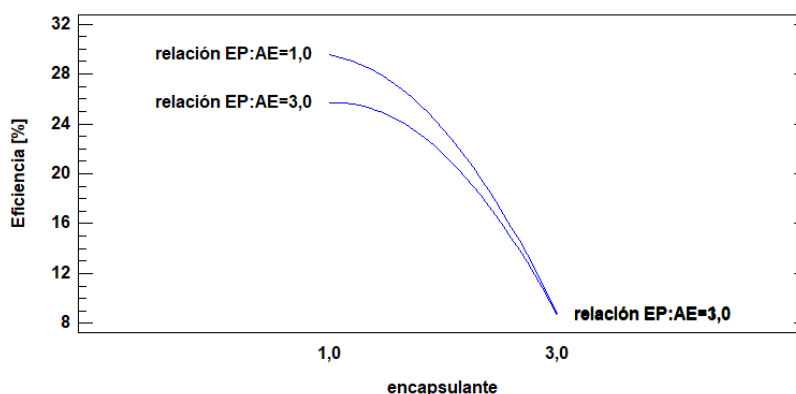
### *Apéndice I. Análisis de varianza para la eficiencia de carga.*

| Fuente           | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A:encapsulante   | 1075,03           | 1  | 1075,03        | 41,58   | 0,0000  |
| B:relación EP:AE | 11,7612           | 1  | 11,7612        | 0,45    | 0,5128  |
| AA               | 78,1456           | 1  | 78,1456        | 3,02    | 0,1077  |
| AB               | 6,7712            | 1  | 6,7712         | 0,26    | 0,6181  |
| BB               | 45,0241           | 1  | 45,0241        | 1,74    | 0,2116  |
| Error total      | 310,279           | 12 | 25,8566        |         |         |
| Total (corr.)    | 1527,02           | 17 |                |         |         |

### *Gráfica de efectos principales para la eficiencia de carga.*



## EVALUACIÓN DE ENCAPSULANTES PARA LA ATOMIZACIÓN DE POLIFENOLES

*Gráfica de interacción para la eficiencia de carga.*

En este caso un efecto tiene un valor P menos que 0.05 ya que estos son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.00 %. El estadístico R2 indica que el modelo ajustado de esa manera explica el 79.6807% de la variabilidad en la eficiencia para los encapsulados, la desviación estándar de los residuos es de 5.0849.

*Análisis de varianza para la eficiencia de carga– Suma de cuadrados tipo III.*

| Fuente                      | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| <b>EFFECTOS PRINCIPALES</b> |                   |    |                |         |         |
| A:encapsulante              | 1153,02           | 2  | 576,51         | 361,53  | 0,0000  |
| B:Relación EP:AE            | 56,8417           | 2  | 28,4208        | 17,82   | 0,0007  |
| <b>INTERACCIONES</b>        |                   |    |                |         |         |
| AB                          | 302,748           | 4  | 75,6869        | 47,46   | 0,0000  |
| RESIDUOS                    | 14,3516           | 9  | 1,59462        |         |         |
| TOTAL (CORREGIDO)           | 1526,96           | 17 |                |         |         |

Para el ANOVA se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III, la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, debido a que los tres valores P son menores que 0.05 significa que los factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la eficiencia de los encapsulados.