

Producción y caracterización de partículas poliméricas encapsulantes de aceites esenciales:  
menta y romero

Kerly Jhoana Ochoa Bedoya

María Paula Robles Amorocho

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Director

Cristiano José De Andrade

Ingeniero de Alimentos, PhD.

Codirector

Luis Javier López Giraldo

Ingeniero Químico, PhD.

Universidad Industrial De Santander

Facultad De Ingenierías Físicoquímicas

Escuela De Ingeniería Química

Bucaramanga

2020

### **Agradecimientos**

Primeramente, a Dios por bendecirnos y guiarnos a lo largo de todo este proceso, a nuestros padres y hermanos por su amor, sacrificio y apoyo incondicional durante todo este tiempo, a Yair, a Rubén y a nuestros amigos por estar siempre presentes y extender su mano en los momentos de estrés y desesperación.

A la Universidad Industrial de Santander por ser nuestro espacio de formación durante estos 5 años. A nuestros docentes de la escuela de Ingeniería química por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión y de manera especial al profesor Luis Javier López Giraldo por su compromiso y dedicación en la culminación de este trabajo de grado.

A la Universidad Federal de Santa Catarina y a los profesores Cristiano José de Andrade, Alcilene Monteiro y Milena Nascimento, por abrirnos las puertas y darnos la oportunidad de realizar este trabajo de grado en sus laboratorios bajo su orientación.

## Contenido

	<b>Pág.</b>
Introducción	11
1. Objetivos	21
1.1. Objetivo general	21
1.2. Objetivos específicos	21
2. Descripción metodológica	22
2.1. Primera etapa: Encapsulación y producción de partículas por coacervación compleja.	23
2.2. Segunda etapa: Caracterización fisicoquímica de las partículas producidas.	24
2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM).	24
2.2.2. Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).	24
2.2.3. Difracción de rayos X (DRX).	25
2.2.4. Tamaño de partícula y potencial Zeta.	25
2.2.5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).	26
2.2.6. Comparación con los métodos de encapsulación: emulsificación y spray dry.	26
2.3. Tercera etapa: Propuesta de aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero.	27
3. Análisis y discusión de resultados	27
3.1. Producción de partículas por coacervación compleja	27

3.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	28
3.3. Espectroscopía Infrarroja por Transformada DE Fourier (FTIR)	32
3.4. Difracción de Rayos X (DRX)	35
3.5. Tamaño de partícula y potencial Zeta	37
3.6. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	42
3.7. Propuesta de aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero.	44
4. Conclusiones	47
5. Recomendaciones	48
Referencias	50
Apéndices	60

**Lista de figuras**

	<b>Pág.</b>
<i>Figura 1.</i> Estructura repetida de la gelatina, responsable de la estructura en triple hélice	13
<i>Figura 2.</i> Principales unidades de azúcar de goma arábica	14
<i>Figura 3.</i> Diagrama conceptual del proyecto.	22
<i>Figura 4.</i> Partículas de aceite esencial de menta y de romero utilizando como materiales de pared goma arábica y gelatina. (A) Partículas de aceite esencial de menta (B) Partículas de aceite esencial de romero	28
<i>Figura 5.</i> Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de menta con aumentos de 500x y 1000x: (A) y (B) Aumento de 1000x (C) Aumento de 500x.	29
<i>Figura 6.</i> Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de romero con aumentos de 500x y 1000x: (A) Aumento de 500x (B) y (C) Aumento de 1000x	29
<i>Figura 7.</i> Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de romero	31
<i>Figura 8.</i> Espectro FTIR de gelatina libre, goma libre, aceite esencial de menta, aceite esencial de romero, partículas de gelatina de goma, partículas de aceite esencial de menta y partículas de aceite esencial de romero	32
<i>Figura 9.</i> Difractograma de gelatina libre, goma libre partículas de gelatina-goma arábica, partículas de aceite esencial de menta y partículas de aceite esencial de romero.	36

*Figura 10.* Difractograma de partículas encapsuladas de compuestos fenólicos extraídos del café

36

*Figura 11.* Termograma DSC de partículas encapsuladas de aceite esencial de menta y aceite esencial de romero.

42

**Lista de tablas****Pág.**

Tabla 1. <i>Tamaño de partícula, índice de polidispersidad y potencial zeta para las partículas de aceite esencial de menta, partículas de aceite esencial de romero y partículas de gelatina-goma arábica libres de aceites esenciales.</i>	37
--	----

**Lista de apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A. Esquema del procedimiento empleado para llevar a cabo la encapsulación de los aceites esenciales (menta y romero) por el método de coacervación compleja.	60
Apéndice B. Materiales y equipos	61
Apéndice C. Ficha técnica del aceite esencial de romero.	62
Apéndice D. Ficha técnica del aceite esencial de menta	63

## Resumen

**Título:** Producción y caracterización de partículas poliméricas encapsulantes de aceites esenciales: menta y romero\*

**Autores:** Kerly Jhoana Ochoa Bedoya y María Paula Robles Amorcho\*\*

**Palabras Claves:** Aceites esenciales, Coacervación Compleja, Encapsulación.

### Contenido:

Los compuestos bioactivos (lípidos, vitaminas, ácidos grasos, aceites esenciales, minerales, terpenos, polifenoles, entre otros) hacen parte de los componentes de los alimentos, y su consumo periódico genera efectos benéficos a la salud humana. La presencia de terpenos y compuestos fenólicos en los aceites esenciales proveen propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El encapsulamiento de los aceites esenciales, por medio de la técnica de encapsulación adecuada, propicia la potencialización de las propiedades químicas y físicas de dichas sustancias con el objeto de dar mayor estabilidad y funcionalidad en condiciones controladas.

Por tal razón, el presente trabajo propone una aplicación en la industria de alimentos para partículas poliméricas encapsuladas con aceites esenciales de menta y/o romero, como alternativa al uso de aditivos alimentarios artificiales, por medio de la técnica de coacervación compleja seguida del secado por liofilización, utilizando como materiales de pared gelatina y goma arábiga con relación 1:1. Las partículas obtenidas se caracterizaron por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de Rayos X (DRX), Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), tamaño de partícula y potencial zeta. Los resultados obtenidos sugieren que los aceites esenciales quedaron encapsulados y protegidos térmicamente en partículas estables, amorfas, lisas y definidas con tamaños entre 11,54 y 17,10  $\mu\text{m}$ .

Estos resultados fueron evaluados y comparados con respecto a estudios anteriores en los que se usaron las técnicas de encapsulación, emulsificación y *spray dry*, encontrándose que la coacervación compleja seguida de secado por liofilización es un método atractivo para la encapsulación de aceites esenciales ya que puede minimizar el daño oxidativo y proporcionar calidad y estabilidad a las microcápsulas. Por último, se propuso que las micropartículas podrían ser incorporadas para el enriquecimiento de postres lácteos (yogures y helados) a fin de reemplazar aditivos antioxidantes sintéticos por aditivos antioxidantes naturales.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad De Ingenierías Físicoquímicas. Escuela De Ingeniería Química. Director: Cristiano José De Andrade, Ingeniero de Alimentos, PhD. Codirector: Luis Javier López Giraldo, Ingeniero Químico, PhD.

**Abstract**

**Title:** Production and characterization of encapsulating polymeric particles of essential oils: Mint and rosemary\*

**Authors:** Kerly Jhoana Ochoa Bedoya and Maria Paula Robles Amorcho\*\*

**Keywords:** Essential oils, Complex Coacervation, Encapsulation.

**Description:**

Bioactive compounds (lipids, vitamins, fatty acids, essential oils, minerals, terpenes, polyphenols, among others) are part of the components of food, and their regular consume generates beneficial effects to human health. The presence of terpenes and phenolic compounds in essential oils provides antioxidant and antimicrobial properties. The encapsulation of essential oils, using the appropriate encapsulation technique, promotes the potentiation of the chemical and physical properties of these substances in order to give them greater stability and functionality under controlled conditions.

For this reason, this work proposed an application in the food industry for polymeric particles encapsulated with mint and/or rosemary essential oils, as an alternative to the use of artificial food additives, using the complex coacervation technique followed with drying by lyophilization, using as wall materials gelatin and gum arabic in a 1:1 ratio. The particles obtained were characterized by Scanning Electronic Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-Ray Diffraction (XRD), Differential Scanning Calorimetry (DSC), particle size and zeta potential.

The results obtained suggest that the essential oils were encapsulated and thermally protected in stable, amorphous and defined particles with sizes between 11.54 and 17.10  $\mu\text{m}$ . These results were evaluated and compared with previous studies in which encapsulation, emulsification and spray dry techniques were used. It was found that complex coacervation followed by freeze-drying is an attractive method for the encapsulation of essential oils since it can minimize oxidative damage and provide quality and stability to the microcapsules. Finally, it was proposed that microparticles could be incorporated for the enrichment of dairy desserts (yogurts and ice cream) in order to replace synthetic antioxidant additives with natural antioxidant additives.

---

\* Degree work

\*\* Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director: Cristiano José De Andrade, Food Engineer, PhD. Co-director: Luis Javier López Giraldo, Chemical Engineer, PhD.

## Introducción

Los procesos de encapsulamiento comenzaron a ser desarrollados entre 1930 y 1940 por la *National Cash Register* (NCR), en Ohio EUA, para la fabricación comercial de tinta negra micro encapsulada, a partir de gelatina como agente encapsulante, con el fin de sustituir el papel de carbono (Lednicer, 2010). La encapsulación es una de las estrategias más interesantes para preservar y controlar la liberación del compuesto de interés, así como para aumentar su aplicación en sistemas alimenticios (K.S. & Sonam Chouhan, 2017). Además, es una tecnología por la cual los compuestos activos son confinados en una matriz polimérica en escala micro o nanométrica proporcionando fácil manejo de los compuestos. Esta matriz polimérica es llamada pared o membrana, y es la encargada de proteger el compuesto activo (enzimas, vitaminas, minerales, aceites y ácidos grasos), que está en el núcleo, de la temperatura, humedad, luz y oxígeno (Alfredo, Montoya, & Martinez, January, 2002).

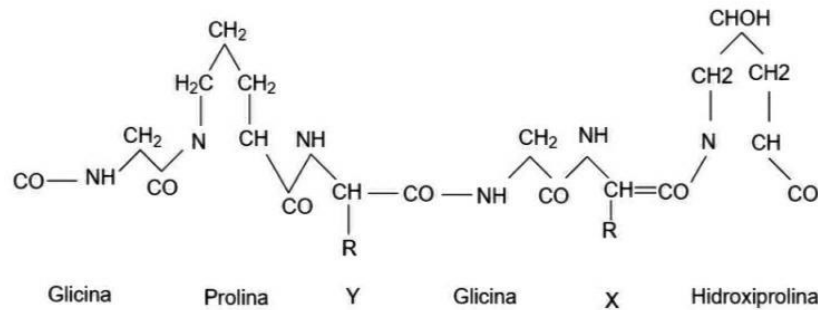
Existen varios métodos para producir partículas encapsulantes (físicos, químicos y/o fisicoquímicos). Los métodos físicos incluyen *spray dry* (SD), secado por enfriamiento, liofilización y extrusión. Mientras que los métodos químicos incluyen polimerización interfacial, inclusión molecular y emulsificación; y los métodos físico químicos incluyen coacervación simple, coacervación compleja (CC) y separación en la fase orgánica (Shahidi & Han, s.f.). Recientemente, se ha utilizado el método de CC para el encapsulamiento de compuestos saborizantes en la industria de alimentos (Saifullah, Shishir, Ferdowsi, Tanver Rahman, & Van Vuong, 2017), este método, se basa en un sistema trifásico que involucra un solvente, un compuesto activo y un material de recubrimiento (Zuanon, 2012), siendo así, los materiales de recubrimiento con carga

positiva y carga negativa interaccionan entre sí para permitir el enmascaramiento del compuesto activo. En general, este proceso implica cuatro pasos: (i) preparar una solución acuosa de dos o más polímeros por encima de la temperatura de gelificación y por encima del punto isoelectrico; (ii) mezclar la fase hidrófoba con la solución acuosa de un polímero y homogeneizar la mezcla dando como resultado una emulsión estable; (iii) cambiar el pH y/o la temperatura para inducir la CC y la separación de fases; (iv) solidificar las matrices poliméricas usando una temperatura elevada, un agente solvatante o un agente de reticulación (Timilsena, Akanbi, Khalid, Adhikari, & Barrow, 2019).

Los agentes encapsulantes pueden estar formados por una amplia variedad de polímeros naturales y sintéticos, tales como goma arábica, gelatina, pectina, caseína, entre otros (Shahidi & Han, s.f.). Además, la gelatina (G) es una proteína soluble en agua de alto peso molecular obtenida por hidrólisis parcial del colágeno de la piel, tejido conectivo y tejido óseo de animales (Alfredo, Montoya, & Martinez, January, 2002), sus propiedades fisicoquímicas dependen del método de producción (ácido o básico), origen (bovino o porcino), tipo de aminoácidos y número de masa molar (Zuanon, 2012). La gelatina tipo A de la piel porcina se produce a partir de un tejido precursor mediante tratamiento ácido, teniendo un punto isoelectrico entre 7 y 9. De manera similar, la gelatina tipo B de la piel bovina se produce mediante un proceso alcalino y tiene un punto isoelectrico entre 4,7 y 5,2. En general, las gelatinas tienen un carácter anfótero, están cargadas negativamente por encima de su punto isoelectrico y cargadas positivamente por debajo del mismo (Alfredo, Montoya, & Martinez, January, 2002). La estructura química de la gelatina consiste en una mezcla de secuencias de aminoácidos de las cuales la glicina, la prolina y la hidroxiprolina están presentes en mayor abundancia. Las moléculas de gelatina contienen secuencias repetidas de tripletes de glicina-X-Y, donde “X” y “Y” son con frecuencia aminoácidos

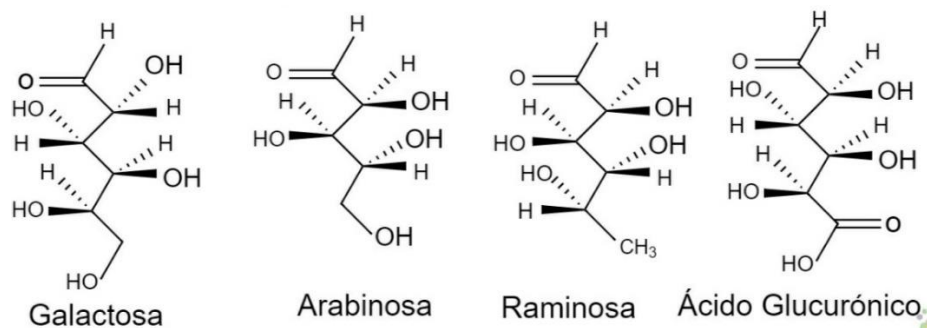
prolina e hidroxiprolina (Burey, Bhandari, Howes, & Gidley, 2008), como se ilustra en la Figura 1.

Figura 1. Estructura repetida de la gelatina, responsable de la estructura en triple hélice



La goma arábica (GA), a su vez, es un biopolímero obtenido de arbustos y árboles del grupo Acacia, que consiste en una mezcla compleja de sales (calcio, magnesio y potasio) y ácidos (polisacárido compuesto de D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa, D-glucosa y ácido D-glucurónico, asociado con una pequeña fracción de proteína del 4%), que es responsable de las propiedades emulsionantes (Dutra Alvim, 2005). La alta solubilidad en agua, la baja viscosidad y sus propiedades emulsificantes hacen que la GA sea un producto versátil para la mayoría de los métodos de encapsulación. Específicamente, la GA se usa ampliamente en la encapsulación de gotas de lípidos porque, además de las propiedades mencionadas anteriormente, tiene propiedades tensioactivas que evitan la pérdida de compuestos volátiles cuando entran en contacto con la atmósfera (Sánchez, 2011).

Figura 2. Principales unidades de azúcar de goma arábiga



En 2009, Rocha (Rocha, 2009) encapsuló licopeno utilizando G y GA como material de pared por dos métodos: CC y SD; las partículas obtenidas, fueron caracterizadas según su morfología, tamaño, eficiencia de encapsulación, estabilidad, higroscopicidad y densidad, e incorporadas en formulaciones de tortas, con la finalidad de evaluar la liberación del pigmento. Las microcápsulas coacervadas presentaron forma esférica, multinucleadas, pared definida, variaciones de tamaño entre 61-144  $\mu\text{m}$  y valores altos de eficiencia de encapsulación, en relación a las obtenidas por SD; de la misma manera, las pruebas de estabilidad indicaron que el método de coacervación fue eficiente para la protección del núcleo. En cuanto a la aplicación en tortas, se adicionó a la formulación de torta patrón licopeno libre y micropartículas coacervadas húmedas, coacervadas liofilizadas y atomizadas por SD; entre tanto, la muestra con microcápsulas coacervadas húmedas, no presentó diferencias significativas en relación a la muestra con licopeno libre, demostrándose beneficios en la encapsulación debido a la eficiente protección y liberación de la coloración del compuesto activo.

Los compuestos bioactivos incluyen lípidos, aceites esenciales, vitaminas, ácidos grasos, antioxidantes y minerales. Cuando estos compuestos se encapsulan, utilizando la técnica de encapsulación adecuada, sus propiedades químicas y físicas se pueden conservar hasta el momento

adecuado de su liberación (Cárdenas Baquero, Arrazola Paternina, & Villalba Cadavid, 2016), (Codevilla, Barin, de Bona da Silva, Marques da Silva, & Ragagnin de Menezes, 2015). Los aceites esenciales (AE), están compuestos de moléculas aromáticas, terpenos, fenoles, aldehídos, cetonas, ésteres, etc. En los últimos años, debido a las percepciones cada vez más negativas de los conservantes sintéticos por parte de los consumidores, se ha ampliado el interés por los AE y su aplicación en la conservación de alimentos, ya que poseen importantes actividades antisépticas, antibacterianas, antivirales, antioxidantes, antiparasitarias, antifúngicas e insecticidas, que previenen el daño oxidativo, una de las principales causas de deterioro de la calidad nutricional o de las propiedades organolépticas en los alimentos (K.S. & Sonam Chouhan, 2017), (Abuashwashi, sf). En 2019, Yilmaztekin *et al.* (Yilmaztekin & et.al., 2019) produjeron micropartículas de alginato de Calcio (Ca) con aceite esencial de menta (AEM) encapsulado, con la finalidad de analizar sus propiedades morfológicas y químicas, e incorporarlas en el helado como producto alimenticio. La composición química del aceite esencial fue determinada por cromatografía de gases, en donde se identificaron moléculas como  $\alpha$ -pineno (7,55 %),  $\beta$ -pineno (8,56 %), limoneno (9,50 %), *p*-mentona (14,89 %) , metil acetato (8,54 %), mentol (20,31 %),  $\alpha$ -terpineol (6,09 %), neomentol (6,98 %), entre otros; asimismo, el espectro FTIR demostró que el mentol y la *p*-mentona, son compuestos que están en altas concentraciones, tanto para el aceite libre como para el encapsulado. El proceso de encapsulación garantizó la liberación controlada y la estabilidad térmica del aceite, además, a través de un análisis sensorial, se determinó que el helado que incorpora encapsulados de AEM, es un sistema prometedor para el consumo de beneficios para la salud.

Poco después, en 2013, Pakzad (Pakzad.Q.H. & Alemzadeh, 2013), utilizó como material de pared G-GA para encapsular AEM mediante CC, empleando Tween 80 y ácido tánico como

agente de reticulación, con el objetivo de investigar parámetros como tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación y liberación del aceite en fluidos gástricos y líquido intestinal simulado. El procedimiento se realizó a diferentes concentraciones, el pH de la emulsión AEM:G-GA se ajustó a 4 y el secado del coacervado se llevó a cabo por liofilización. Los valores de tamaños de partículas comprenden un rango de 19-66  $\mu\text{m}$ , observándose que el tamaño de partícula aumentó, al aumentar la concentración del núcleo y del material de pared, y disminuyó con el aumento de ácido tánico y tween 80; asimismo, las microcápsulas liberaron la mayor parte del material del núcleo en los fluidos gástricos simulados. Sin embargo, según investigaciones realizadas por los autores, el AEM es efectivo para el síndrome de colon, por lo que su liberación es deseable en el intestino. En 2014 Beyki *et al.* (Beyki & et.al., 2014), encapsularon AEM en nano geles de quitosano (Cs) con ácido cinámico (Ci), con el fin de mejorar su actividad antimicrobiana y su estabilidad contra el hongo *Aspergillus flavus*. Para la producción de los nano geles con AEM encapsulado se llevaron a cabo los siguientes pasos: (i) formación de nano gel mediante Ci (317,5 mg) acoplado a Cs (0,5 g en solución acuosa de  $\text{CH}_3\text{-COOH}$  ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ) al 1% de concentración final 0,5%) a través de una reacción mediada por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC;669L); (ii) encapsulación del AEM (6000 ppm) en nano geles (0,5% p/v); (iii) aplicación de las cápsulas en tomate cherry infectado con *Aspergillus flavus*. Los resultados presentaron nanopartículas y mejores rendimientos en las propiedades antimicrobianas del AEM encapsulado con respecto a las propiedades antimicrobianas del AEM libre; también, las pruebas *in vivo*, mostraron que los aceites encapsulados fueron capaces de preservar la calidad de la fruta durante un período de almacenamiento de 1 mes.

De manera similar, Oliveira *et al.* (Mattos de Oliveira, Brugnera, & Piccoli, 2013) evaluaron dos alternativas basadas en la producción de películas de gelatina comestible con aceite

esencial de tomillo y aceite esencial de romero (AER), para el control antimicrobiano de *Listeria monocytogenes* en piezas de carne cruda de bovino. De igual manera, el autor identificó que el AER contiene los siguientes compuestos de derivados terpénicos: 1,8-cineol (33,10%), alcanfor (19,03%),  $\alpha$ -pineno (11,55%),  $\beta$ -pineno (10,27%) timol (17,37%), *p*-cimeno (15,3%) y carvacrol (12,10%), los cuales, poseen fuertes propiedades antimicrobianas, por lo tanto, este estudio exhibió, que el AER presentó actividad antibacteriana contra *L. monocytogenes* inoculados en carne cruda, lo que lo convierte en una alternativa natural y prometedora para el control de esta bacteria patógena en la industria cárnica. Además, en 2013, Fernández *et al.* (de Barros Fernandes, y otros, 2013), realizaron la encapsulación de AER utilizando GA como material de pared por el método de SD. La concentración de GA varió del 10% al 30% y la cantidad de AER fue 1: 4 (p / p) en relación con la masa del material de pared. Los resultados mostraron composiciones de AER libre y micro encapsulado en la matriz de GA bastante similares; sin embargo, después de la encapsulación, se observaron pequeños cambios en los porcentajes relativos de compuestos individuales, tales como,  $\alpha$ -pineno y 1,8-cineol, indicando pérdidas por volatilización debido a las altas temperaturas utilizadas en el proceso de SD. Después, en 2014, (Teodoro, Fernandes, Botrel, Borges, & Souza, 2014) encapsularon AER por el método SD, utilizando maltodextrina (MD) y almidón modificado como materiales de pared, con el fin de evaluar su efecto antimicrobiano en masa fresca (mezcla de harina, agua, azúcar y sal) por medio de los hongos: *Penicillium* y *Aspergillus*. La relación de los materiales de pared fue 1:1 (p / p) y la relación de los materiales de pared con el AER fue de 1:4 (p / p). Los resultados mostraron un proceso de encapsulación efectivo para mantener los principales componentes del aceite presentando una retención del 50% a pesar de usar altas temperaturas; las cápsulas presentaron estructuras amorfas, superficies sin fisuras y un tamaño de partícula promedio de 12,2  $\mu\text{m}$ . Para evaluar la inhibición del crecimiento

de los hongos filamentosos en el tiempo, los autores estudiaron los tratamientos de control de la siguiente forma: (i) masa fresca sin aceite adicionado; (ii) adición de 1,5% de aceite esencial puro en relación con 100g de masa fresca; (iii) adición de 1,5% de aceite esencial micro encapsulado en relación con 100g de masa fresca. Los dos últimos tratamientos mostraron actividad antimicrobiana, sin embargo, observaron mayor inhibición cuando se usó aceite esencial micro encapsulado, lo que puede estar relacionado con la eficiencia de la liberación gradual de sus componentes activos desde las cápsulas hasta el producto alimenticio.

Al año siguiente, (Turasan, Sahin, & Sumnu, 2015) estudiaron la encapsulación de AER utilizando como materiales de recubrimiento MD con dextrosa (DE) y proteína de suero (WP) concentrada. El procedimiento lo realizó en diferentes formulaciones por el método de emulsiones seguido de secado por liofilización. En la preparación de la cápsula se usaron dos proporciones diferentes de WP y MD (1:3 y 3:1), tres relaciones diferentes de núcleo a revestimiento (1:40, 1:20 y 1:10) y dos relaciones diferentes de equivalentes de (DE: 13-17 % y DE: 4-7 %). Los autores encontraron que el aumento de la relación WP:MD aumentó la eficiencia de la encapsulación y del secado, asimismo, las cápsulas con relación de núcleo a revestimiento 1:20 (DE:13-17 %) obtuvieron los mejores resultados. Por su parte, la estabilidad de almacenamiento del compuesto 1,8-cineol aumentó considerablemente después de la encapsulación.

Además, otros estudios, evaluaron la capacidad antioxidante de los AEM y AER mediante la técnica 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), y determinaron que estos son capaces de prevenir la oxidación en un  $69,1 \pm 3,4$  % y en un  $62,45\% \pm 3,42\%$  para el AEM y AER, respectivamente; esto gracias a la presencia de los compuestos 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, timol y carvacrol en los AE (Wang, Wu, Zu, & Fu, 2008), (Solis-Quispe & et.al., 2017)

Por lo tanto, la encapsulación es una técnica que cobra cada vez más importancia en la industria alimentaria, gracias a ella se ha permitido mediante diversas tecnologías estabilizar compuestos activos, incrementando su biodisponibilidad y permitiendo su liberación a velocidades controladas en el sitio deseado con el fin de aprovechar en su totalidad, sus propiedades funcionales. Aunque se han estudiado varias técnicas para la encapsulación de alimentos con diferentes agentes encapsulantes, la técnica de SD es actualmente la más utilizada en el sector de alimentos y bebidas, le sigue la técnica de emulsiones y finalmente la técnica de CC, sin embargo, a la fecha son pocos los estudios que se han encargado de caracterizar extractos de AEM y AER micro encapsulados, utilizando GA y G como materiales de pared, para la aplicación en la industria de alimentos. En este contexto, este trabajo pretende, mediante la interacción asociativa de biopolímeros de carga opuesta (G y GA) con características estabilizantes, plastificantes y emulsificantes, encapsular y mantener las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de los AEM y AER, a través del método de CC conocido por su capacidad de formar microcápsulas de forma esférica con tamaños tan pequeños hasta de  $4\mu\text{m}$ , protegiendo al compuesto activo contra la oxidación y pérdidas por volatilización; su alta eficiencia de encapsulación, simplicidad y bajo costo (Timilsena, Akanbi, Khalid, Adhikari, & Barrow, 2019), (Zuanon, Malacrida, & Telis, 2013), (Pedroza Islas, 2002), a fin de dar una respuesta a la pregunta, ¿En qué área de la industria de alimentos es posible encontrar una aplicación para las partículas encapsuladas con aceites esenciales, mediante el método de coacervación compleja con secado por liofilización, que se emplee como alternativa a los aditivos alimentarios artificiales? Cabe resaltar, que la encapsulación de AE representa un desafío que busca el desarrollo de conservantes naturales y funcionales, como respuesta a las necesidades de la industria alimentaria. Teniendo en cuenta lo anterior, este estudio busca proponer una posible aplicación para las partículas poliméricas

encapsuladas con AE en una industria de alimentos específica que puede ser, industria cárnica, industria de la panificación y la repostería, industria de los helados o industria de bebidas refrescantes.

## 1. Objetivos

### 1.1. Objetivo general

Producir partículas poliméricas encapsuladas de aceites esenciales: menta y romero, mediante el método de coacervación compleja.

### 1.2. Objetivos específicos

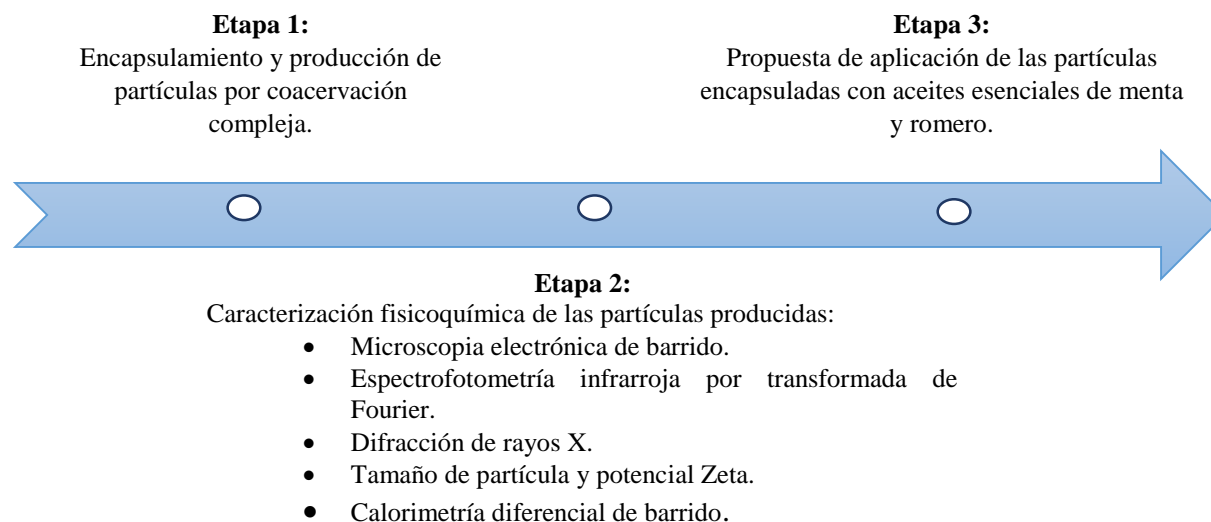
Evaluar las partículas obtenidas por el método de coacervación compleja mediante un estudio bibliográfico comparativo con los métodos de encapsulación: emulsificación y *spray dry*, en términos de morfología, tamaño, estabilidad y propiedades térmicas.

Identificar una posible aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero, teniendo en cuenta sus características físicas y las de los aditivos alimentarios usados en las diferentes áreas de la industria de alimentos.

## 2. Descripción metodológica

La metodología propuesta para dar solución a los objetivos planteados se describe en la Figura 3.

Figura 3. Diagrama conceptual del proyecto.



### Reactivos

Los aceites esenciales de menta (*Mentha arvensis*) y de Romero (*Rosmarinus officinalis*) fueron adquiridos de Ferquima Industria y comercio LTDA (Vargem Grande, São Paulo, Brasil). Los polímeros de pared fueron adquiridos así: la Gelatina bovina tipo B (Bloom 250 30 Mesh) fue donada por Gelnex *The Gelatin Specialist* (Itá, Santa Catarina, Brasil) y la Goma arábica (Goma Acacia 100%) fue donada por Wifa Ingredientes de Brasil LTDA (Florianópolis, Santa Catarina,

Brasil). El agua destilada y el ácido clorhídrico (HCl) (37%, Neón, Brasil) fueron usados como solventes.

### **2.1. Primera etapa: Encapsulación y producción de partículas por coacervación compleja.**

En el Apéndice A se muestra esquemáticamente el procedimiento descrito por Zuanon *et al.* (Zuanon, Malacrida, & Telis, 2013) y empleado para llevar a cabo la encapsulación de los AEM y AER por el método de CC. A continuación, se describen cada uno de los pasos: (i) La solución de G (50 ml a 2,5 % p/p) y el AEM o AER (1,25 g) se homogeneizaron usando un agitador Ultra Turrax (T25 IKA-Werke, Staufen, Alemania) a 15,000 rpm durante 5 minutos para obtener una emulsión; (ii) luego, la solución de GA (50 ml a 2,5 % p/p) se añadió a la emulsión; (iii) seguidamente se homogenizó usando un agitador magnético, agregando una cantidad de agua correspondiente a dos veces el volumen del sistema (200 ml); (iv) posteriormente, el pH se ajustó a  $4,0 \pm 0,01$ , con ácido clorhídrico (HCl; 0,5 M). Durante el proceso, la temperatura se controló y se mantuvo en  $50 \pm 3$  °C; (v) Poco después, el sistema estuvo bajo agitación durante el enfriamiento (en baño de hielo) hasta alcanzar  $10 \pm 2$  °C; (vi) luego, se almacenó en un refrigerador a 3 °C durante 24 h para la precipitación completa de partículas cubiertas con papel film y papel de aluminio; (vii) Mas adelante, se eliminó el exceso de agua y el coacervado se congeló en un ultra freezer (CL 200-86V, Brasil) a -40 °C durante 24 h en placas de aluminio, el secado se realizó por liofilización (Liotop, L101, Brasil) durante 48 h con las siguientes condiciones: temperatura del condensador -55 °C, presión 53  $\mu$ Hg y temperatura final de 25 °C; (viii) Finalmente, las muestras obtenidas fueron maceradas y almacenadas en un desecador con silica gel.

Del mismo modo, se hicieron partículas de gelatina-goma arábica (P-GGA) libres de aceite, con el fin de compararlas con las partículas encapsuladas de AE.

La etapa experimental de este trabajo se realizó mediante la modalidad de pasantía de investigación en el Laboratorio de Propiedades Físicas de los Alimentos (PROFI), en el Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos de la Universidad Federal de Santa Catarina (UFSC) en Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

## **2.2. Segunda etapa: Caracterización fisicoquímica de las partículas producidas.**

### ***2.2.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM).***

La morfología de las micropartículas fue determinada utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM, JSM-6390LV, JEOL, Japón) con sensor de electrones secundarios retro dispersados y voltaje de aceleración de 15 kV (Nascimento da Silva, 2018). Antes del análisis, las muestras se fijaron en un soporte metálico con cinta de carbono; posteriormente, se cubrieron con una fina capa de oro empleando un equipo metalizador (Baltec, SCD 0005, Japón). Se tomaron varias micrografías en puntos aleatorios con aumentos de 500x y 1000x. Las imágenes fueron adquiridas en escala de grises y almacenadas en formato TIFF.

### ***2.2.2 Espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).***

Los espectros infrarrojos de los materiales puros y las micropartículas se obtuvieron usando un espectrofotómetro de infrarrojo (Agilent Technologies, Carry 660, EUA). Con este análisis se identificaron grupos funcionales, enlaces químicos y las interacciones químicas de los AEM y AER con la matriz polimérica de las micropartículas a base de G-GA.

Los espectros de las muestras puras (G y GA) y las micropartículas fueron recolectados usando pellets de KBr (aproximadamente 1 mg de muestra por 200 mg de KBr) en el rango espectral de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con 32 escaneos a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  con temperatura de 25 °C para cada muestra (Nascimento da Silva, 2018).

Para los AE libres, las medidas fueron realizadas en el FTIR con un accesorio de reflectancia total atenuada horizontal (ZnSe). Aproximadamente 2  $\mu\text{l}$  de muestra fueron colocados directamente sobre el cristal con una media de 28 escaneos en el intervalo de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$  a una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  para cada aceite. Se realizaron tres réplicas por cada muestra, las cuales fueron promediadas para el análisis de resultados.

### ***2.2.3. Difracción de rayos X (DRX).***

El análisis para determinar el estado cristalino-amorfo de las micropartículas se realizó utilizando un difractómetro de rayos X (Rigaku, MiniFlex 600 DRX, Japón) usando una radiación Cu-K $\alpha$ 1 con una longitud de onda de 1,54 Å a una tensión de 40 kV y corriente de 15 mA. Para llevarlo a cabo, se colocaron aproximadamente 10 mg de muestra en un soporte para polvo cubierto con una lámina de vidrio, el ángulo incidente fue  $2\theta$  y los ángulos de dispersión comprendieron los valores de 2° a 80° con incremento de 0,005 ° (10 °. min<sup>-1</sup>) (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017). Se hicieron tres pruebas para cada muestra que fueron promediadas para el análisis de resultados.

### ***2.2.4. Tamaño de partícula y potencial Zeta.***

Antes de medir el tamaño de partícula y el potencial Zeta, las micropartículas se dispersaron con agua destilada a una concentración 1% (p/p) para evitar múltiples efectos de dispersión.

El tamaño de partícula y el índice de polidispersidad fueron medidos por dispersión dinámica de luz (DLS) utilizando un difractómetro de láser Zetasizer Nanosizer ZS 3600 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido), por su parte, el potencial Zeta se evaluó mediante la dispersión de luz electroforética (ELS), en los mismos equipos y bajo las mismas condiciones utilizadas en el análisis DLS (Panalytical, 2019), (Panalytical M. , 2019). El análisis se realizó por triplicado para cada muestra y posteriormente se promediaron para el análisis de resultados.

### ***2.2.5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).***

La temperatura de transición vítrea, cristalización, fusión y degradación de las micropartículas se determinaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (Jade-DSC, Perkin Elmer, EUA) equipado con un accesorio Refrigerated Cooling Accessory (RCS) (Nascimento da Silva, 2018). Se usó un crisol de aluminio vacío como referencia y como soporte de muestras en el calorímetro. Aproximadamente 3 mg de muestra (micropartículas) previamente pesadas en una balanza analítica (Shimadzu, AY 220) se sellaron herméticamente y se escanearon a una velocidad de calentamiento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, en un rango de temperatura de 0 a 180 °C, con velocidad de flujo de 45 mL.min<sup>-1</sup>, bajo atmósfera de nitrógeno.

### ***2.2.6 Comparación con los métodos de encapsulación: emulsificación y spray dry.***

La evaluación de la caracterización fisicoquímica de las partículas obtenidas por el método de coacervación compleja, se realizó por medio de un estudio bibliográfico comparativo con los métodos de encapsulación: emulsificación y spray dry, por medio de las diferentes bases de datos: BASE, Sciencedirect, Scopus y Researchgate, en los idiomas español, inglés y portugués,

utilizando como palabras claves: spray dry, emulsificación, coacervación compleja, caracterización fisicoquímica, aceites esenciales y encapsulación.

### **2.3. Tercera etapa: Propuesta de aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero.**

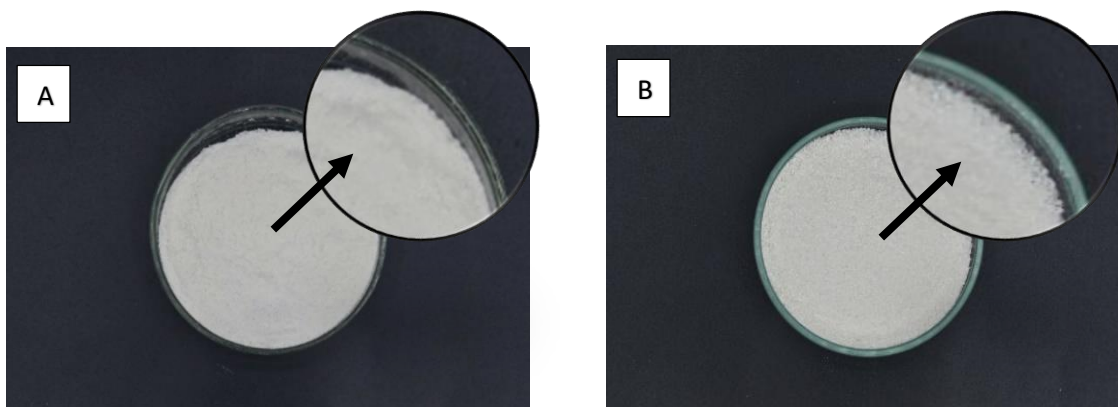
Para la identificación de una posible aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero, teniendo en cuenta sus características fisicoquímicas, se realizó una revisión bibliográfica a partir de un estudio exploratorio de artículos científicos y libros especializados en la temática a tratar, por medio de las diferentes bases de datos: BASE, Scimedirect, Scopus y Researchgate, en los idiomas español, inglés y portugués.

## **3. Análisis y discusión de resultados**

### **3.1. Producción de partículas por coacervación compleja**

El método de CC produjo partículas de aceite esencial de menta y partículas de aceite esencial de romero identificadas como P-AEM y P-AER respectivamente, como se ilustra en la Figura 4.

*Figura 4.* Partículas de aceite esencial de menta y de romero utilizando como materiales de pared goma arábica y gelatina. (A) Partículas de aceite esencial de menta (B) Partículas de aceite esencial de romero



En la Figura 4a se aprecian algunas aglomeraciones, por el contrario, en la Figura 4b se observa un polvo suelto más refinado, esto puede deberse a la ausencia de aceite en la superficie y/o a la presencia de agua en las mismas. El color blanco de las micropartículas se atribuye a los materiales de la pared utilizados en el proceso. Es importante mencionar que para los sistemas producidos hubo formación de precipitado y sobrenadante claro, que es lo esperado por la técnica de CC.

### 3.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las P-AEM y P-AER se muestran en la Figura 5 y 6 respectivamente.

Figura 5. Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de menta con aumentos de 500x y 1000x: (A) y (B) Aumento de 1000x (C) Aumento de 500x.

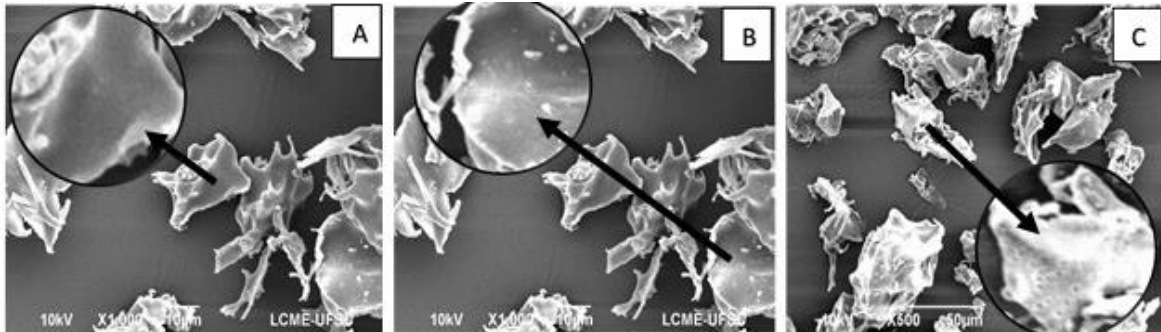
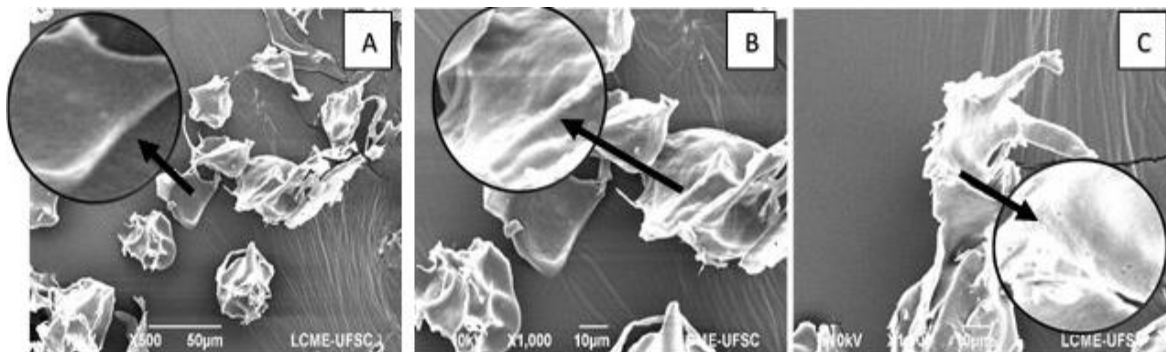


Figura 6. Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de romero con aumentos de 500x y 1000x: (A) Aumento de 500x (B) y (C) Aumento de 1000x



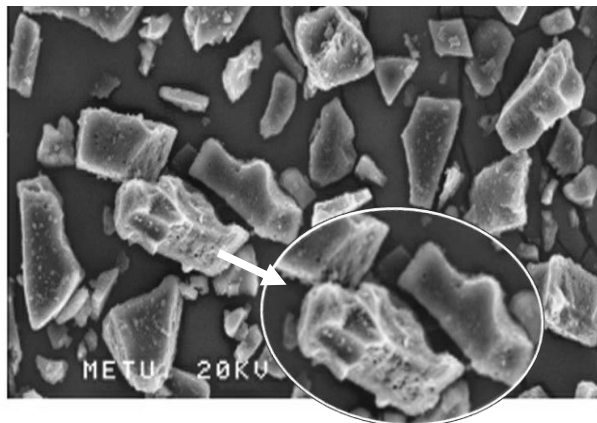
Las P-AEM y P-AER muestran superficies lisas y planas, con paredes definidas (Fig. 5a, 6a), que aseguran una mejor retención del material de relleno y menor permeabilidad a los gases; además, proporcionan una mayor protección y preservación de los AE encapsulados (Fig. 5b, 6b) (de Barros Fernandes, y otros, 2013). Este tipo de morfología está asociado con el método de secado (liofilización) utilizado después del proceso de CC (Zabot, Silva, Azevedo, & Meireles, 2016).

Del mismo modo, se observa la presencia de compuestos activos (aceite no encapsulado) en la superficie de las partículas (P-AEM y P-AER), que provocan la interacción de estos con los materiales de pared, y por consiguiente la unión de diferentes microcápsulas, causando aglomeraciones durante el secado por liofilización (García Carmona, 2019), (Comunian, y otros, 2013) como se muestra en las micrografías. De acuerdo con (García Carmona, 2019), este comportamiento indicaría que el polímero no se repartió de forma equitativa alrededor de los AE. Es necesario destacar, que según las micrografías las P-AER tienen menos aceite esencial en la superficie, en comparación con las P-AEM, por tanto, estas últimas exhiben más aglomeraciones (Fig. 5c, 6c).

En los resultados de este estudio se pueden encontrar diferencias con los ya obtenidos por (Turasan, Sahin, & Sumnu, 2015), quienes señalaron estructuras porosas y con agujeros dentro de las cápsulas (Fig. 7) , estos poros fueron debido a los residuos de cavitaciones atrapados de AER, que resultaron de la volatilización del aceite durante la liofilización, cosa que no ocurrió en este trabajo. En efecto, las P-AER encapsuladas con MD y WP (Turasan, Sahin, & Sumnu, 2015), versus las P-AER y P-AEM encapsuladas con G-GA obtenidas de este estudio difieren considerablemente en cuanto a la ausencia de poros, esto posiblemente se debe a la capacidad que tiene el método de CC de crear un polímero (G-GA) que en la etapa de separación de fases forme una película protectora fuerte alrededor del núcleo (García Carmona, 2019), (Nakamura, Yoshida, Maeda, & Corredig, 2006). Asimismo, es alentador comparar los resultados con los de Dutra (Dutra Alvim, 2005) quien encapsuló compuestos hidrofóbicos (oleoresina de pimentón y aceite de soja) en G-GA con y sin reticulantes, por CC, utilizando 2 métodos de secado: liofilización y SD. El método de SD sin el uso de reticulantes destruyó la partícula, mientras que el secado por liofilización fue eficiente en la obtención de micro partículas secas para todos los sistemas,

consiguiendo muestras deshidratadas con paredes continuas, semejantes a una forma esférica, con deformaciones a lo largo de la pared y presencia de puntas en algunas partículas, sugiriendo esto que el uso de reticulantes en las micro partículas no altera la estructura, pues aquí se muestra similitud en la estructura de las partículas con y sin reticular. En términos relativos, Ballesteros *et al.* (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017) evaluaron las técnicas de secado por liofilización y SD para la encapsulación de compuestos fenólicos extraídos del café molido gastado (FCG), utilizando como materiales de pared MD, GA y una mezcla de estos (1:1). Los autores alcanzaron mejores resultados cuando secaron por liofilización, igualmente, en el presente trabajo, a pesar de que no se presentaron formatos perfectamente esféricos, fue posible ver los aceites encapsulados (Fig. 5b, 6b), razón por la cual se puede concluir que la liofilización puede ser una buena opción de secado para encapsular compuestos fenólicos, ya que es capaz de retener un alto porcentaje de los mismos.

*Figura 7.* Micrografía electrónica de barrido de las micropartículas de aceite esencial de romero

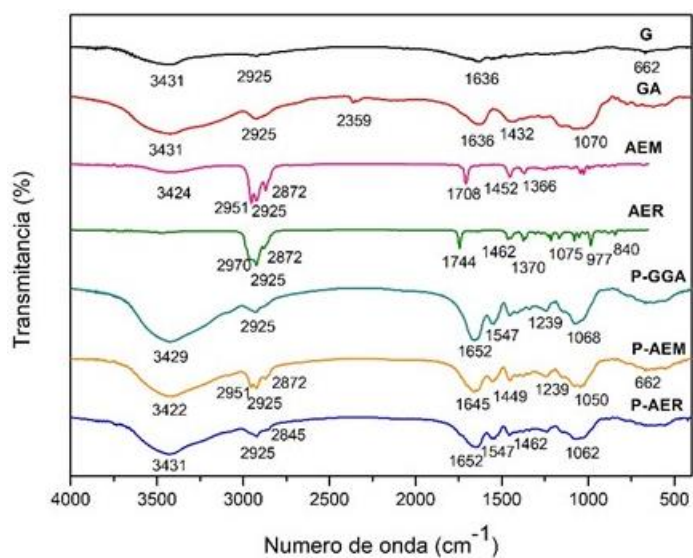


Adaptado de (Turasan, Sahin, & Sumnu, 2015)

### 3.3. Espectroscopía Infrarroja por Transformada DE Fourier (FTIR)

En este trabajo, se observaron las vibraciones de estiramiento de las funciones químicas de las micropartículas producidas. Los resultados obtenidos en el espectro FTIR, para el estudio de interacciones químicas entre G, GA, AEM, AER, P-GGA, P-AEM y P-AER en la matriz polimérica se muestran en la Figura 8.

Figura 8. Espectro FTIR de gelatina libre, goma libre, aceite esencial de menta, aceite esencial de romero, partículas de gelatina de goma, partículas de aceite esencial de menta y partículas de aceite esencial de romero



El espectro FTIR para el AEM muestra que las bandas de  $3424\text{ cm}^{-1}$  son correspondientes a la presencia de grupos OH, mientras que las bandas a  $2925\text{ cm}^{-1}$  y  $2872\text{ cm}^{-1}$  corresponden a enlaces  $-\text{CH}_3$  con hibridación  $\text{Sp}^3$  y enlaces  $-\text{CH}_2$  respectivamente. La banda de  $1708\text{ cm}^{-1}$  en el espectro corresponde a las vibraciones relacionadas con  $\text{C}=\text{O}$ . Las bandas de  $2951\text{ cm}^{-1}$ ,  $1700\text{ cm}^{-1}$ ,  $1452\text{ cm}^{-1}$  y  $1366\text{ cm}^{-1}$  son representativos de  $\text{C}=\text{H}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ , y grupos alifáticos. Las

vibraciones de  $2951\text{ cm}^{-1}$  y  $1360\text{ cm}^{-1}$  corresponden a enlaces C-H, O-H y C-O característicos de alcoholes primarios. Las señales débiles en el rango de  $1210\text{ cm}^{-1}$  a  $1230\text{ cm}^{-1}$  indican la presencia de moléculas de ésteres asimétricos con pequeños momentos dipolares. Prakash y Yumus (Prakash & Yumus, 2013) exhibieron en su espectro FTIR producido para el aceite esencial por hidrodestilación de *Mentha Arvensis*, que las fuertes vibraciones de estiramiento en las bandas  $3355\text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $2953\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ ),  $2869\text{ cm}^{-1}$  (C-O  $\text{CH}_3$ ),  $1702\text{ cm}^{-1}$  (C=O),  $1455\text{ cm}^{-1}$  (C=H- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_3$ ),  $1384\text{ cm}^{-1}$  (alcoholes primarios) y  $1291\text{ cm}^{-1}$  (ésteres), sugieren la presencia de mentol y mentona como principales constituyentes del AEM, lo anterior, sirve como base para afianzar y constatar los resultados obtenidos en el presente trabajo, puesto que son semejantes y efectivamente se evidencia la presencia de estos mismos compuestos.

Por otra parte, en el espectro FTIR del AER libre, se muestra la banda ancha de  $2925\text{ cm}^{-1}$  con un evidente estiramiento que pertenece a la tensión del enlace - $\text{CH}_3$  y - $\text{CH}_2$ , el pico que se muestra en  $1744\text{ cm}^{-1}$  pertenece a la presencia de C=O. El rango de  $1462\text{ cm}^{-1}$  y  $1370\text{ cm}^{-1}$  corresponde a grupos C- $\text{CH}_3$  mientras que las bandas en  $1075\text{ cm}^{-1}$  y  $977\text{ cm}^{-1}$  están asociadas con vibraciones de enlaces C-O y C=C. En ese orden de ideas, las bandas características de  $1370\text{ cm}^{-1}$ ,  $977\text{ cm}^{-1}$  y  $840\text{ cm}^{-1}$  producidas, sugieren la presencia del compuesto 1,8-cineol, asimismo, en la banda  $1744\text{ cm}^{-1}$  (C=O) y en los rangos  $2925\text{ cm}^{-1}$  -  $2970\text{ cm}^{-1}$  y  $1462$  (- $\text{CH}_2$ ) -  $1370\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3$ ) apuntan hacia la presencia de alcanfor (de Barros Fernandes, Borges, Alvarenga Botrel, & Rodrigues de Oliveira, 2013).

En cuanto a las intervenciones de la G y GA en las partículas de AEM y AER, se permite abordar un poco sobre sus espectros libres y sin aceites (P-GGA). En los números de onda  $3431\text{ cm}^{-1}$ ,  $1636\text{ cm}^{-1}$  y  $2925\text{ cm}^{-1}$ , se observa que tanto para la G como para la GA hay presencia de grupos -OH, y grupos metilo -CH, así como también enlaces de hidrógeno en la banda ancha  $3431$

$\text{cm}^{-1}$ . En particular, GA presenta, un estiramiento en  $1070 \text{ cm}^{-1}$  referente a enlaces C-O-C, por su parte, la presencia de la banda con baja intensidad a  $2925 \text{ cm}^{-1}$  en el espectro es característico de los grupos carboxílico (Silverstein, Webster, & Kiemle, 2005). En el caso de la G, la banda de  $662 \text{ cm}^{-1}$  corresponde a enlaces de  $-\text{NH}_2$  y las vibraciones presentes en la banda  $3431 \text{ cm}^{-1}$  corresponden a grupos de aminas. Durante la CC, se espera que la unión de cargas positivas y negativas, es decir, grupos amino y carboxilo, promuevan el proceso de CC, formando un complejo que contenga enlaces amida (dos Santos, Carpinteiro, Thomazini, & Rocha-Selmi, 2014). Conforme a lo anterior, el análisis FTIR verificó la formación de amidas en las microcápsulas, comprobando la aparición de la CC; así pues, en las P-AEM y P-AER, se observan estiramientos en las bandas de  $1645 \text{ cm}^{-1}$  y  $1652 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, confirmando la presencia de grupos amida. Los espectros FTIR de AE encapsulados, presentan similitud con los espectros  $2872$  y  $2951 \text{ cm}^{-1}$  (AEM) y  $2872 \text{ cm}^{-1}$  (AER) de los AE libres, sin embargo, la ausencia de la mayoría de bandas características de los AE libres, en el espectro de las micropartículas, determinan que los compuestos activos se enmascararon por los agentes encapsulantes, lo que sugiere, que hubo sinergismos químicos al combinar sustancias de diferente naturaleza química, estas combinaciones se expresan mediante el reforzamiento de la intensidad de las bandas que van desde  $3431 \text{ cm}^{-1}$  hasta los  $2872 \text{ cm}^{-1}$  y de los  $1652 \text{ cm}^{-1}$  hasta los  $622 \text{ cm}^{-1}$  (dos Santos, Carpinteiro, Thomazini, & Rocha-Selmi, 2014), (Ramos, 2016).

A lo largo de la encapsulación de AE naturales, es importante tener en cuenta los cambios que se producen en la formación de las emulsiones (de Barros Fernandes, Borges, Alvarenga Botrel, & Rodrigues de Oliveira, 2013) o de los coacervados. Los espectros de micropartículas encapsuladas por el método de emulsiones, presentan semejanzas con los espectros de micropartículas encapsuladas por el método de CC, ambos muestran interacciones electrostáticas,

enlaces de hidrógeno y, en algunos casos, formación de grupos funcionales tipo amida (Gonzalez Martinez, 2017). Este aspecto demuestra la efectividad del proceso de microencapsulación y garantiza la estabilidad de los compuestos activos por el efecto protector de la pared polimérica contra la oxidación y la evaporación de los mismos (Nogueira, 2015). Sin embargo, se debe enfatizar en que los procesos de secado no deben alterar la estructura química de las matrices ya que, independientemente del proceso, no deben observarse cambios significativos (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017).

### 3.4. Difracción de Rayos X (DRX)

En el análisis de DRX, los picos afilados definen materiales cristalinos y los picos anchos definen materiales amorfos, siendo así; en la Figura 9 se presentan los patrones de difracción correspondientes a G, GA, P-GGA, P-AER y P-AEM. En ella, se ve representado el ángulo incidente a  $2\theta$ :  $20^\circ$  para los materiales, tales como: GA, P-GGA, P-AER y P-AEM y  $2\theta$ :  $22^\circ$  para la G, mostrando claramente características amorfas sin exhibir picos cristalinos. Teodoro *et al.* (Teodoro, Fernandes, Botrel, Borges, & Souza, 2014), Ballesteros *et al.* (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017), Fernandes *et al.*, Di Battista (Di Battista, 2016) y (Ramírez Londoño, 2013), encapsularon compuestos activos por diferentes métodos de encapsulación (SD y emulsificación); sus resultados muestran difractogramas similares a los obtenidos en este trabajo, es decir, también presentaron partículas amorfas, lo cual, permitiría inferir que ni el método de encapsulación, ni el método de secado (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017), tienen influencia notable sobre la estructura cristalino-amorfo de las micropartículas (Fig. 10). Como se mencionó anteriormente, existe gran semejanza entre los resultados obtenidos en este trabajo y los expuestos por Ballesteros *et al.* (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto,

2017), quienes analizaron los difractogramas correspondientes a los materiales de pared puros, GA y MD, al encapsulamiento de los FCG con GA, MD y GA-MD (1:1), y demostraron que los principales responsables de la estructura final de los productos encapsulados, son los materiales de recubrimiento usados, tal como ocurre con el presente estudio, en donde, las microcápsulas muestran el comportamiento estructural amorfo propio de los agentes encapsulantes: G-GA.

Figura 9. Difractograma de gelatina libre, goma libre partículas de gelatina-goma arábica, partículas de aceite esencial de menta y partículas de aceite esencial de romero.

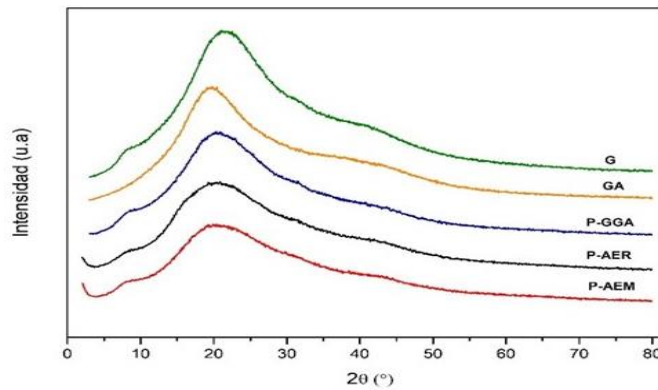
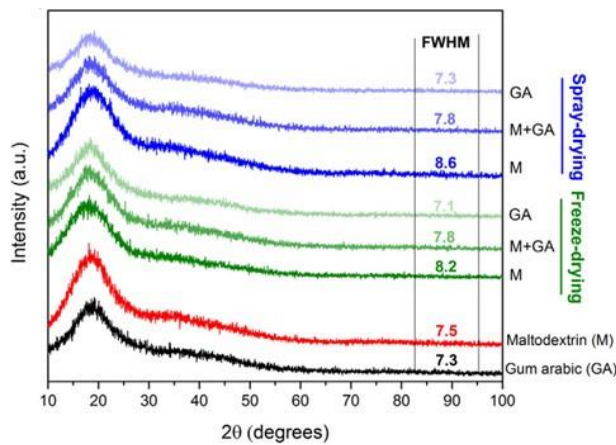


Figura 10. Difractograma de partículas encapsuladas de compuestos fenólicos extraídos del café



Adaptado de (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017)

De igual manera, la gráfica revela que los difractogramas de las muestras encapsuladas con aceites esenciales exhiben una disminución en la intensidad con respecto a los difractogramas de las P-GGA y los materiales de pared puros, esta disminución podría indicar el enmascaramiento de las sustancias activas y comprobar, la efectividad de la microencapsulación aplicando el método de CC (Darío, Hernández, Gómez, Ii, & Saúl, 2010), (Tapia Poveda, 2017). De igual modo, la ausencia de picos cristalinos en los difractogramas ayuda a la retención de componentes activos y evitan una posible liberación anticipada de los mismos (McClements & Rao, 2011).

### 3.5. Tamaño de partícula y potencial Zeta

La Tabla 1 muestra los valores correspondientes al tamaño de partícula, índice de polidispersidad (PDI) y potencial zeta de las P-AEM, P-AER y P-GGA.

Tabla 1.

*Tamaño de partícula, índice de polidispersidad y potencial zeta para las partículas de aceite esencial de menta, partículas de aceite esencial de romero y partículas de gelatina-goma arábiga libres de aceites esenciales.*

Muestra	Tamaño de partícula (µm)	PDI	Potencial zeta
P-AEM	11,54 ± 0,70	0,45 ± 0,35	-6,03 ± 0,18
P-AER	17,10 ± 2,70	0,54 ± 0,24	-8,64 ± 0,01
P-GGA	2,41 ± 1,45	0,81 ± 0,2	-12,4 ± 0,17

Tal como se puede observar (Tabla 1), los tamaños de las P-GGA fueron considerablemente menores con respecto a los tamaños de las P-AEM y P-AER, lo que podría indicar que hubo enmascaramiento de aceites en el proceso de coacervación. Generalmente, los tamaños de partícula obtenidos por CC van desde 1-500  $\mu\text{m}$ . Las P-AEM y P-AER obtenidas en este trabajo, se produjeron con concentraciones de polímero de pared de 2,5% (p/p) y 50% de núcleo en relación con el peso total de materiales de pared, y exhibieron tamaños que corresponden a  $11,54 \pm 0,70 \mu\text{m}$  y  $17,10 \pm 2,70 \mu\text{m}$ , respectivamente. De igual manera, los valores de PDI para las P-AEM, P-AER y P-GGA fueron de  $0,45 \pm 0,35$ ;  $0,54 \pm 0,24$ ;  $0,81 \pm 0,2$  respectivamente; estos valores proveen información de la uniformidad de la distribución del tamaño de partícula, valores de PDI  $<0,1$  indican monodispersidad; mientras que, valores entre 0,1-0,4 indican un tipo de distribución intermedio moderadamente polidispersas y, valores  $>0,4$  señalan ancha polidispersidad. El análisis de datos de la Tabla 1 indica que, según los valores obtenidos de PDI con sus respectivas desviaciones, las micropartículas están en un rango de polidispersidad ancha (Nobbmann, 2017), es decir, con variedad de tamaños; sin embargo, la presencia de cualquiera de los aceites (menta o romero), demuestra una disminución favorable en la homogeneidad de las partículas encapsuladas.

Los resultados de tamaño de partícula, presentan valores similares a los encontrados por (Rodrigues da Cruz, Andreotti Dagostina, Augusto Perussello, & Massona, 2019), quienes encapsularon ácido ascórbico en G-GA, usando diferentes combinaciones entre núcleo (25%, 50% y 75%) y materiales de pared (2,5%, 5,0% y 7,5% p/p), por la técnica de CC. La combinación 50% núcleo con 2,5% p/p materiales de pared, mostró un tamaño de 9,8  $\mu\text{m}$ . La diferencia entre este tamaño y los obtenidos en el presente trabajo, podría deberse a que en el momento en que se realizó el estudio, las muestras P-AEM y P-AER podrían encontrarse húmedas. De igual forma, otros

factores que podrían influir son los siguientes: velocidad de homogeneización, tensión superficial, viscosidad, proceso de secado y la concentración del material activo en la cápsula (Rodrigues da Cruza, Andreotti Dagostina, Augusto Perussello, & Massona, 2019), (Universidad de Antioquia, sf).

En comparación con otros autores, los tamaños obtenidos en la presente investigación fueron más bajos que los mostrados en sus estudios. Rocha (Cárdenas Baquero, Arrazola Paternina, & Villalba Cadavid, 2016), produjo microcápsulas de licopeno con tamaños de 61-144 $\mu\text{m}$ , Comunian *et al.* (Comunian, y otros, 2013) encapsularon ácido ascórbico y describieron que alcanzaron tamaños entre 51,67-83,82  $\mu\text{m}$ . Similarmente, (dos Santos, Carpinteiro, Thomazini, & Rocha-Selmi, 2014) produjeron micropartículas de xilitol y mentol con tamaños de 78,45 a 109,31  $\mu\text{m}$ . Todos estos procesos se llevaron a cabo por el método de CC utilizando como material de pared G-GA. Estas diferencias entre los tamaños de las partículas pudieron haberse dado por la velocidad y el tiempo de homogeneización utilizado en las emulsiones (velocidades entre 8.000-12.000 rpm) (Rodrigues da Cruza, Andreotti Dagostina, Augusto Perussello, & Massona, 2019), pues la velocidad utilizada en este trabajo(15.000 rpm) es superior a la de las obras mencionados.

Según Teodoro *et al.* (Teodoro, Fernandes, Botrel, Borges, & Souza, 2014), la técnica SD produce partículas pequeñas (1-50 $\mu\text{m}$ ) (Jayanudin, Rochmadi, Fahrurrozi, & Wirawan, 2016), debido a que el disolvente se evapora durante el proceso de secado y las gotas pierden la mayor parte de su volumen. (de Barros Fernandes, y otros, 2013) encapsularon AER y obtuvieron tamaños de 13,6  $\mu\text{m}$ ; Teodoro *et al.* (Teodoro, Fernandes, Botrel, Borges, & Souza, 2014) produjeron partículas de AER y obtuvieron partículas con un tamaño medio de 12,2  $\mu\text{m}$ ; y Zuanon (2012) encapsuló oleorresina de cúrcuma logrando tamaños medios entre 16 - 18  $\mu\text{m}$ . Un tamaño

de partícula pequeño en SD implica un área de superficie grande que puede conducir a que parte del aceite esencial no quede completamente encapsulado (0,2-1%) (Anwar & Kunz, 2011), (Espinosa & García, 2017), siendo así, las altas temperaturas utilizadas en la técnica de SD, pueden permitir la volatilización y la oxidación de los componentes de los AE (Jayanudin, Rochmadi, Fahrurrozi, & Wirawan, 2016) que se encuentren en la superficie, lo que puede provocar sabores desagradables en las partículas encapsuladas (Espinosa & García, 2017).

Como se ha mencionado anteriormente, las técnicas SD y CC con secado por liofilización, pueden presentar similitudes en los resultados de tamaño de partícula, arrojando valores pequeños en el orden de micrómetros; pero, a diferencia de lo que ocurre con el método de SD, la CC con secado por liofilización, podría generar micropartículas con bajo contenido de aceite superficial (0,02%) (Anwar & Kunz, 2011); además, es un proceso que se lleva a cabo con temperaturas más bajas que las temperaturas de volatilización de los AE, lo cual puede evitar alteraciones en sus propiedades y reducir reacciones que provocan su degradación (Ramirez Navas, 2006).

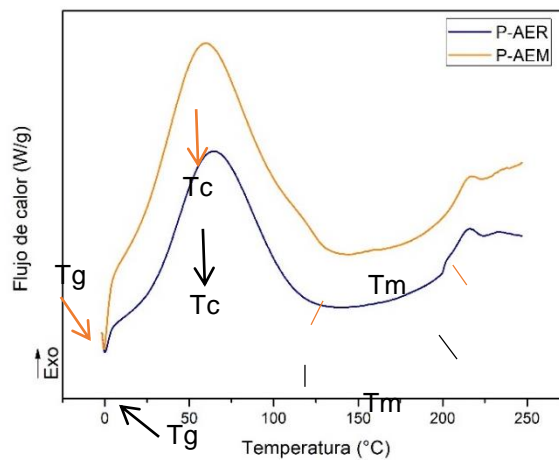
Por otra parte, un parámetro fundamental en el estudio de las interacciones, repulsión o atracción de partículas en suspensión en un líquido es el Potencial Zeta, que se define como la carga global adquirida por las micropartículas en un medio, y su valor da la indicación de estabilidad física en la dispersión de las micropartículas (Rahman, Zidan, Habib, & Khan, 2010); cuando la carga sea más alta, mayor será el potencial electrostático y la consecuente repulsión, que impedirá que las partículas se atraigan y permanezcan unidas formando agregados. En general, los valores de potencial inferiores a -30 mV y superiores a 30 mV confieren estabilidad mientras que los valores de potencial entre -10 mV y 10 mV se consideran aproximadamente neutros (Baena, 2019) y señalan peligro de aglomeración de las partículas en suspensión. La carga eléctrica de las partículas producidas por CC es otorgada por el producto de las cargas de sus materiales de pared

(Wang, Adhikari, & Barrow, 2014). La GA tiene un potencial negativo, independiente del pH del medio en el que se encuentre; esto debido a la carga que poseen los grupos carboxilato que están su estructura (Eratte, Wang, Dowling, Barrow, & Adhikari, 2014), por el contrario, la carga superficial de la G es positiva por debajo de su punto isoeléctrico; además, al ser una proteína, la mayoría de sus grupos amino están cargados positivamente ( $-\text{NH}_3^+$ ), mientras que la mayoría de los grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) son neutrales por debajo de su punto isoeléctrico (Wang, Adhikari, & Barrow, 2014). En la Tabla 1 se pueden observar los valores de potencial zeta referentes a este estudio, los cuales arrojaron micelas coloidales negativas, con bajo potencial, que puede indicar peligro de aglomeración; por lo que se sugiere que la estabilidad podría estar más relacionada con la viscosidad, el tamaño de partícula o la composición de la emulsión, que con la repulsión electrostática (Comunian, Palazzolli da Silva, Freitas Moraes, & Favaro-Trindade, 2019). De igual manera, es importante resaltar que la técnica de CC, en comparación con otras técnicas convencionales como el SD, alcanza una carga útil superior al 50% que proporciona una cubierta externa más gruesa, logrando así, sistemas estables (Wang, Adhikari, & Barrow, 2014), por lo que esto también permitiría una mayor estabilidad en las P-AEM y P-AEM. Los resultados observados en este estudio son similares a los encontrados por (Baena, 2019) quien encapsuló, a diferentes concentraciones, oleoresina de uchuva utilizando como material de pared goma xantana (material altamente viscoso) alcanzando valores de potencial zeta entre 7,52 y -10,2 mV, considerando que la estabilidad conseguida de las partículas fue concebida por la alta viscosidad del material encapsulante.

### 3.6. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La Figura 11 ilustra el comportamiento térmico de las P-AEM y P-AER. En este análisis se pueden visualizar los cambios de primer orden (involucran calor latente) y segundo orden (cambio en la capacidad calorífica) de las micropartículas mediante la variación de flujo de calor en función de la temperatura.

Figura 11. Termograma DSC de partículas encapsuladas de aceite esencial de menta y aceite esencial de romero.



La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), es una transición de segundo orden que está asociada con la estructura amorfa de las partículas (Mera, 2015). En esta temperatura las cadenas poliméricas que conforman la partícula adquieren movilidad provocando un aumento de su viscosidad y una disminución de su densidad, dureza y rigidez (Santos de Sousa, 2016); así pues, aquellas cadenas poliméricas que puedan moverse con facilidad tendrán una  $T_g$  muy baja (bajo suministro de calor), mientras que las que no, tendrán una  $T_g$  alta (alto suministro de calor). Si se sigue calentando el material se llega a la temperatura de cristalización ( $T_c$ ), la cual se presenta

como una transición exotérmica, que indica que el polímero está liberando calor. El continuo suministro de calor, permite la formación de cristales y por ende a temperaturas más altas que la  $T_c$ , se alcanza una transición de primer orden denominada, transición térmica de fusión ( $T_m$ ), que se refleja como una transición endotérmica, puesto que el calor suministrado, es absorbido por la muestra (Mera, 2015).

Las P-AEM alcanzaron su  $T_g$  a los  $4,5\text{ }^\circ\text{C}$ , entre tanto, las P-AER consiguieron su  $T_g$  a los  $5,56\text{ }^\circ\text{C}$ , lo que quiere decir que a estas temperaturas, las partículas presentan cierta elasticidad y generan mayor estabilidad (De Recerca, 2011). Los picos exotérmicos que se muestran en las temperaturas  $59,05\text{ }^\circ\text{C}$  y  $64,23\text{ }^\circ\text{C}$  indican la  $T_c$  de las P-AEM y P-AER respectivamente; las curvas con este comportamiento, son propias en los materiales poliméricos (Widmann, 2000). Siguiendo la gráfica, se observa una transición endotérmica entre  $127,47\text{ }^\circ\text{C}$  -  $207,55\text{ }^\circ\text{C}$  para el caso de las P-AEM y entre  $125,25\text{ }^\circ\text{C}$  -  $198,27\text{ }^\circ\text{C}$  para las P-AER, perteneciente a las  $T_m$ . Cabe recordar, que según el análisis de DRX realizado en esta investigación, las microcápsulas son de carácter amorfo, por lo tanto, éstas no presentan puntos de fusión definidos, sino que abarcan un intervalo de valores (Gil Bercero, Barroso Herrero, & Camacho López, 2010). La última parte de la curva gravimétrica muestra para las dos formulaciones una alteración entre las temperaturas  $200\text{ }^\circ\text{C}$  y  $250\text{ }^\circ\text{C}$ , que corresponde a la degradación de la G presente en las paredes de las micropartículas (Rahman, Zidan, Habib, & Khan, 2010) pues la goma arábiga como membrana de pared funde a  $250\text{ }^\circ\text{C}$  (García Sotelo, 2014), temperatura que no cubre este análisis.

Por otra parte, la temperatura de ebullición del AEM libre se encuentra a los  $212\text{ }^\circ\text{C}$  (ROTH, 2019); no obstante, la curva correspondiente a las P-AEM no muestra alteraciones endotérmicas en este rango de temperaturas, lo que podría significar que hubo encapsulamiento parcial o total del biocompuesto funcional. Del mismo modo, García (Gil Bercero, Barroso Herrero, & Camacho

López, 2010) estudió el comportamiento del AER libre a través de un análisis DSC y percibió un cambio de fase o vaporización de los componentes del mismo, cuando se alcanzaron los 73 °C. En la curva perteneciente a las P-AER, no se observa ninguna alteración alrededor de los 73 °C, lo que indica que efectivamente se protegieron los componentes volátiles del efecto de la temperatura.

Encontrando similitudes con el termograma realizado por (Zhang, y otros, 2020), que consiste en el estudio DSC de la G-GA, se podría decir que la caracterización térmica de las micropartículas depende en gran medida de los materiales de pared, lo que evidencia que los cambios sufridos en las muestras están directamente relacionados con las temperaturas de transición de los materiales encapsulantes (Ballesteros, Ramirez, Orrego, Teixeira, & Mussatto, 2017). Por su parte, este análisis permite determinar las posteriores condiciones térmicas para la aplicación de las microcápsulas, a partir de él, es posible tener una noción de que puede ocurrir con ellas a determinada temperatura.

### **3.7. Propuesta de aplicación de las partículas encapsuladas con aceites esenciales de menta y romero.**

En los últimos años se han encontrado efectos secundarios en humanos como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, gastritis y daños en el sistema nervioso central atribuidos al empleo de antioxidantes sintéticos en la industria de alimentos (Arango B., Pantoja D., Santacruz Ch., & Hurtado B., 2012). El uso de aceites esenciales como aditivos funcionales naturales cobra especial importancia en la industria alimenticia, ya que estos compuestos son reconocidos como seguros (GRAS) para ser usados de forma intencionada en los alimentos (Asensio, 2013). Las micropartículas coacervadas

que contienen AEM o AER (compuestos lipofílicos) (Dutra Alvim, 2005) producidas en este trabajo, se podrían utilizar como posibles sistemas de administración de agentes antimicrobianos y antioxidantes.

De acuerdo con lo anterior, los AE encapsulados (menta y romero), se pueden incorporar para el enriquecimiento de postres lácteos (yogures y helados) a fin de reemplazar aditivos antioxidantes sintéticos (ascorbato cálcico, ascorbato sódico, ácido ascórbico, hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA)) (C.A. Commission, 1981) por aditivos antioxidantes naturales capaces de neutralizar radicales libres, proporcionar estabilidad fisicoquímica, mejorar las características sensoriales y alargar la vida útil de los alimentos (Zhang, y otros, 2020). Las P-AEM y P-AER producidas en este trabajo de pregrado, comprenden un tamaño de partícula apto (P-AEM:  $11,54 \pm 0,70$ ; P-AER:  $17,10 \pm 2,70$ ) para aplicar en el campo de lácteos (10 nm-100  $\mu\text{m}$ ) (McClements & Rao, 2011).

La no solubilidad de las micropartículas en agua, su afinidad en matrices hidrofóbicas y el uso de biopolímeros con carga opuesta (G-GA) como vehículos de transporte protectores contra la degradación de los activos que anteriormente demostraron ser superficies lisas y definidas, y estructuras amorfas, pueden prometer una liberación controlada del compuesto lipofílico (antioxidante) en un sitio de acción particular o en respuesta a un estímulo específico (pH, actividad enzimática o temperatura) dentro del cuerpo humano ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ): liberación en la boca (pH 5-7), estómago (pH 1-3), intestino delgado (pH 6-7,5), intestino grueso o colon (pH 5-7) (McClements & Li, 2010). Las P-AEM y P-AER con carga negativa se consideran estables en un medio con  $\text{pH}=4$ , sin embargo, al ser ingeridas, se pueden provocar cambios drásticos que alteren su condiciones de estabilidad, por efectos de la rápida variación de pH en el tracto gastrointestinal (TGI); igualmente, según los resultados del análisis DSC, se tiene certeza que las cápsulas a

temperaturas y por encima de 4,5 °C y por debajo de 64 °C se encuentran seguras ante la degradación térmica. En este caso se espera que los compuestos activos sean liberados en el intestino delgado, ya que la mayor parte de compuestos nutraceuticos son digeridos o absorbidos en esta etapa del TGI humano a fin de llegar a distintos órganos y combatir radicales libres (McClements & Garti, Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals, no. 239. Philadelphia, Pa: Woodhead Publishing, 2012). Esto prepara el escenario para el desarrollo y uso de simulaciones intestinales que permitan conocer a ciencia cierta el comportamiento de las P-AEM y P-AER como aditivos nutraceuticos en el cuerpo humano con la intención de aprovechar las los beneficios de los aceites esenciales.

#### 4. Conclusiones

La morfología y las propiedades térmicas de las partículas producidas, en comparación con estudios previos en los que utilizaron técnicas de emulsión y secado por *spray dry*, determinan que los aceites esenciales quedaron encapsulados y protegidos parcialmente por los agentes encapsulantes, a través de superficies definidas y planas y sin cambios alrededor de las temperaturas de fusión y ebullición de los aceites esenciales, proporcionando calidad y estabilidad en las microcápsulas.

La técnica de coacervación compleja con liofilización fue efectiva para producir micropartículas con aceites esenciales encapsulados: menta y romero, con tamaños favorables (11,54 - 17,10  $\mu\text{m}$ ) funcionales para aplicación en la industria láctea (yogur y helado) como alternativa a los antioxidantes sintéticos.

## 5. Recomendaciones

Este proyecto es el punto de partida para futuras investigación que permitan dar solución a las necesidades de la industria alimenticia, buscando futuros usos en entornos reales. Por lo tanto, se plantean las siguientes recomendaciones:

- Se requieren análisis adicionales, tales como cromatografía de gases de los aceites esenciales y de las partículas encapsuladas, eficiencia de encapsulación, variación del pH en el potencial Zeta, higroscopicidad, densidad, solubilidad, actividad antioxidante y actividad antimicrobiana.
- Realizar producción de nuevas partículas a diferentes concentraciones alterando la congelación y el secado para obtener partículas esféricas.
- Se necesitan más estudios para determinar las interacciones con los componentes de postres lácteos y así establecer mecanismos de liberación apropiados en TGI.
- Los aceites esenciales también tienen propiedades antimicrobianas que se pueden preservar o mejorar mediante la encapsulación mediante coacervación compleja para producir partículas que pueden usarse como agentes capaces de prevenir el crecimiento de bacterias y mejorar la vida útil de los alimentos.



## Referencias

- Abuashwashi, M. (sf). “*Estudio analítico y de la actividad antioxidante de ‘Rosmarinus officinalis’ L. de la Península Ibérica,*”. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Alfredo, J., Montoya, S., & Martinez, L. (January, 2002). “*Aplicaciones Biotecnológicas de la Microencapsulación,*”.
- Anwar, S., & Kunz, B. (2011). “*The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying,*” .  
Obtenido de J. Food Eng., vol.105, no.2,p.367–378,, : doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.02.047
- Arango B., O., Pantoja D., D., Santacruz Ch., L., & Hurtado B., A. M. (2012). *Antioxidant activity of essential oils of oregano (Lippia origanoides H.B.K) Grown in alto patia*. Obtenido de Rev. Bio. Agro vol. 10 no. 2 Popayán:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612012000200010](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612012000200010)
- Asensio, C. (2013). “*Varieties of oregano as an antimicrobial preservative, antioxidant and the sensory properties of foods: cottage cheese, ricotta and olive oil,*”.
- Baena, Y. (2019 de 2019). “*Caracterización Físicoquímica de Emulsiones Aceite/Agua a partir de Uchuva (Physalis peruviana) como Ingrediente para la Industria Alimenticia*  
*Physicochemical Characterization of O/W Emulsions from Goldenberry (Physalis peruviana) as an Ingredient,*”. vol. 30, no. 3, p. 147–156.
- Ballesteros, L., Ramirez, M., Orrego, C., Teixeira, J., & Mussatto, S. (2017). “*Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and*

- spray-drying using different coating materials,*”. Obtenido de Food Chem., vol. 237, pp. 623–631: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Beyki, M., & et.al. (2014). “*Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan – cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus,*” *Ind. Crop. Prod.* Obtenido de doi: [10.1016/j.indcrop.2014.01.033](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.033)
- Burey, P., Bhandari, B., Howes, T., & Gidley, M. (2008). *Hydrocolloid gel particles Formation, characterization, and application* . Obtenido de Centre for Nutrition and Food Sciences, University of Queensland.: [https://www.researchgate.net/publication/5387650\\_Hydrocolloid\\_Gel\\_Particles\\_Formation\\_Characterization\\_and\\_Application](https://www.researchgate.net/publication/5387650_Hydrocolloid_Gel_Particles_Formation_Characterization_and_Application)
- C.A. Commission. (1981). “*Norma general para los Aditivos Alimentarios,*” *Codex Alimentarius*. Obtenido de doi: [10.1017/CBO9781107415324.004](https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004)
- Cárdenas Baquero, G. D., Arrazola Paternina, G., & Villalba Cadavid, M. (2016). *Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos-Tropical Fruits: Source of Natural Compounds Bioactives Food Industry*. Obtenido de <https://doi.org/10.21500/01247492.2152>
- Codevilla, C. F., Barin, J. S., de Bona da Silva, C., Marques da Silva, T., & Ragagnin de Menezes, C. (2015). *Incorporation of curcumin into nanostructured systems: A Review*. Obtenido de <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/19744>
- Comunian, T. A., Thomazini, M., Gouvêa Alves, A. J., Eustáquio, F., de Matos, J. d., & Favaro-Trindade, C. S. (June de 2013). *Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: Protection and controlled release*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996913001919>

- Comunian, T., Palazzolli da Silva, M., Freitas Moraes, I. C., & Favaro-Trindade, C. (December de 2019). *Reducing carotenoid loss during storage by co-encapsulation of pequi and buriti oils in oil-in-water emulsions followed by freeze-drying: Use of heated and unheated whey protein isolates as emulsifiers*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/338024527\\_Reducing\\_carotenoid\\_loss\\_during\\_storage\\_by\\_co-encapsulation\\_of\\_pequi\\_and\\_buriti\\_oils\\_in\\_oil-in-water\\_emulsions\\_followed\\_by\\_freeze-drying\\_Use\\_of\\_heated\\_and\\_unheated\\_whey\\_protein\\_isolates\\_as\\_emulsifiers](https://www.researchgate.net/publication/338024527_Reducing_carotenoid_loss_during_storage_by_co-encapsulation_of_pequi_and_buriti_oils_in_oil-in-water_emulsions_followed_by_freeze-drying_Use_of_heated_and_unheated_whey_protein_isolates_as_emulsifiers)
- Darío, O., Hernández, L., Gómez, M., Ii, C., & Saúl, A. (2010). “*Microencapsulación de tramadol en ácido poliláctico mediante secado por aspersion Microencapsulation of Tramadol in polyactic acid by aspersion drying,*” vol. 44, no. 4, pp. 432–442, .
- de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., Alvarenga Botrel, D., & Rodrigues de Oliveira, C. (13 de December de 2013). *Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers*. Obtenido de <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.12449>
- de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., Botrel, D. A., SilvaFood, E. K., Gomes da Costa, M., & Queiroz, F. (2013). *Microencapsulation of Rosemary Essential Oil: Characterization of Particles*. Obtenido de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373937.2013.785432?journalCode=ldrt>
- 20
- De Recerca, C. (2011). “*Encapsulación de quercetina en nano y micro-emulsiones alimenticias,*”. Innotec, vol. 0, no. 6, p. 37–41.

- Di Battista, C. (2016). *“Microencapsulación de Fitoesteroles Mediante Secado por Atomización,”*.
- dos Santos, M. G., Carpinteiro, D. A., Thomazini, M., & Rocha-Selmi, G. A. (2014). *Coencapsulation of xylitol and menthol by double emulsion followed by complex coacervation and microcapsule application in chewing gum*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/275722228\\_Coencapsulation\\_of\\_xylitol\\_and\\_menthol\\_by\\_double\\_emulsion\\_followed\\_by\\_complex\\_coacervation\\_and\\_microcapsule\\_a pplication\\_in\\_chewing\\_gum](https://www.researchgate.net/publication/275722228_Coencapsulation_of_xylitol_and_menthol_by_double_emulsion_followed_by_complex_coacervation_and_microcapsule_application_in_chewing_gum)
- Dutra Alvim, I. (2005). *“Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes,”*.
- Eratte, D., Wang, B., Dowling, K., Barrow, C., & Adhikari, B. (Jul. de 2014). *“Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil,” Food Funct., vol. 5, .* Obtenido de doi: 10.1039/c4fo00296b
- Espinosa, H., & García, E. (2017). *Tensoactivos y lípidos*.
- García Carmona, Ó. (2019). *“Estudio de la influencia de los diferentes parámetros involucrados en la microencapsulación mediante coacervación complejas,”*.
- García Sotelo, D. (2014). *“Capacidad antimicrobiana y estabilidad termica de aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis) encapsulado en Bciclodextrina.,”*.
- Gil Bercero, J., Barroso Herrero, S., & Camacho López, A. (2010). *Introducción al conocimiento de los materiales y a sus aplicaciones*.
- Gonzalez Martinez, D. (2017). *“Evaluación de complejos de proteína-polisacáridos en la microencapsulación mediante secado por aspersion del aceite de almendra de capulín (Prunus serotina),”* .

- Jayanudin, J., Rochmadi, R., Fahrurrozi, M., & Wirawan, S. (Jan de 2016). “*Microencapsulation Technology of Ginger Oleoresin With Chitosan as Wall Material: A review,*” . Obtenido de *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 6, pp. 209–223, : doi: 10.7324/JAPS.2016.601232
- K.S., & Sonam Chouhan, S. (2017 ). “*Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives,*” *Medicines*, vol. 4, no. 4, p. 58, . Obtenido de doi: 10.3390/medicines4030058
- Lednicer, D. (2010). “*Microscopic shells filled with chemicals are the key to technologies ranging from agriculture to pharmaceuticals,*” *Invent. Technol.*, vol. 19, no. 2. Obtenido de <https://www.inventionandtech.com/content/capsule-history-0>
- Mattos de Oliveira, M. M., Brugnera, D. F., & Piccoli, R. H. (2013). *Essential oils of thyme and Rosemary in the control of Listeria monocytogenes in raw beef.* Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24688509/>
- McClements, D. J., & Rao, J. (April de 2011). *Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity.* Obtenido de *Critical reviews in food science and nutrition* 51(4):285-330: [https://www.researchgate.net/publication/50833989\\_Food-Grade\\_Nanoemulsions\\_Formulation\\_Fabrication\\_Properties\\_Performance\\_Biological\\_Fate\\_and\\_Potential\\_Toxicity](https://www.researchgate.net/publication/50833989_Food-Grade_Nanoemulsions_Formulation_Fabrication_Properties_Performance_Biological_Fate_and_Potential_Toxicity)
- McClements, D., & Garti, N. (2012). *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*, no. 239. Philadelphia, Pa: Woodhead Publishing.
- McClements, D., & Li, Y. (2010). “*Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components,*” . Obtenido de *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 159, no. 2, p. 213–228: doi: 10.1016/j.cis.2010.06.010

- Mera, D. (2015). “*Estudio calorimétrico mediante análisis por DSC y TGA de la degradación de recubrimientos de YSZ depositados por Air Plasma Spray*,”. Universidad Nacional de Colombia.
- Nakamura, A., Yoshida, R., Maeda, H., & Corredig, M. (2006). “*Soy soluble polysaccharide stabilization at oil-water interfaces*,” . Obtenido de Food Hydrocoll., vol. 20, no. 2-3 SPEC. ISS., pp. 277–283: doi: 10.1016/j.foodhyd.2005.02.018
- Nascimento da Silva, M. (2018). “*Incorporação de curcumina e cristais de Curcumina em Revestimento Comestível à Base de Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)*,” .
- Nobbmann, U. (23 de octubre de 2017 ). *Polidispersidad: ¿Qué significa para dls y cromatografía?* Obtenido de [https://www.materials-talks.com/blog/2017/10/23/polydispersity-what-does-it-mean-for-dls-and-chromatography/?utm\\_source=MaterialsTalks&utm\\_medium=blog&utm\\_campaign=faq-peak-size-or-z-average-size-which-one-to-pick-in-dls&utm\\_term=9612&utm\\_content=entryCon](https://www.materials-talks.com/blog/2017/10/23/polydispersity-what-does-it-mean-for-dls-and-chromatography/?utm_source=MaterialsTalks&utm_medium=blog&utm_campaign=faq-peak-size-or-z-average-size-which-one-to-pick-in-dls&utm_term=9612&utm_content=entryCon)
- Nogueira, A. (2015). “*Microencapsulacion de sabores mediante secado por aspersion*,” vol. 23, no. 1, pp. 65–69, .
- Pakzad, Q.H., Q. H., & Alemzadeh, I. (2013). *Encapsulation of Peppermint Oil with Arabic Gum-gelatin by Complex Coacervation Method*. Obtenido de [ije.ir/article\\_72152.html](http://ije.ir/article_72152.html)
- Panalytical, M. (2019). “*Dynamic-Light-Scattering*,”. Obtenido de <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/dynamic-light-scattering>

- Panalytical, M. (2019). “*Electrophoretic Light Scattering.*” p. 1. Obtenido de <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/technology/light-scattering/electrophoretic-light-scattering#:~:text=>
- Pedroza Islas, R. (2002). “*Alimentos Microencapsulados : Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas,*”. Obtenido de Memorias del VI Simp. Int. Nutr. Acuícola, p. 10,: [http://www.uanl.mx/secciones/publicaciones/nutricion\\_acuicola/VI/archivos/A26.pdf](http://www.uanl.mx/secciones/publicaciones/nutricion_acuicola/VI/archivos/A26.pdf).
- Prakash, N., & Yumus, M. (Dec. de 2013). “*Fourier Transform Infrared Spectroscopy Analysis Of Oil Of Menthaarvensis Grown At Sites Varying With Vehicular Traffic Loads In Lucknow City, India,*” *Int. J. Environ., vol. 2.* Obtenido de doi: 10.3126/ije.v2i1.9204
- Rahman, Z., Zidan, A., Habib, M., & Khan, M. (2010). “*Understanding the quality of protein loaded PLGA nanoparticles variability by Plackett – Burman design,*”. Obtenido de *Int. J. Pharm., vol. 389, no. 1–2, pp. 186–194:* doi: 10.1016/j.ijpharm.2009.12.040.
- Ramírez Londoño, M. (2013). “*Evaluación de variables de un proceso de micro-encapsulación para la estabilización de Evaluation of variables of a microencapsulation process for polyphenol stabilization*”.
- Ramirez Navas, J. (2006). “*Liofilización de alimentos,*” .
- Ramos, P. (June de 2016). “*Microencapsulación de aceites esenciales de semillas de chía (Salvia hispanica), lino (Linum lusitatissimum) y calabaza (Cucurbita maxima) por el método de coacervación usando el c...,*”. Obtenido de doi: 10.13140/RG.2.2.26028.87689
- Rocha, G. (2009). “*Produção, Caracterização, Estabilidade e Aplicação de Microcápsulas de Licopeno,*” .

- Rodrigues da Cruz, M. C., Andreotti Dagostina, J. L., Augusto Perussello, C., & Massona, M. L. (February de 2019). *Assessment of physicochemical characteristics, thermal stability and release profile of ascorbic acid microcapsules obtained by complex coacervation*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X17319148>
- ROTH. (2019). “*Ficha de datos de seguridad Sección 1 : Aceite de menta,*” . Obtenido de Roth, vol. 2006, no. 1907, p. 1–18, : [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/0/SDB\\_0183\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/0/SDB_0183_ES_ES.pdf)
- Saifullah, M., Shishir, M., Ferdowsi, R., Tanver Rahman, M., & Van Vuong, Q. (December de 2017). “*Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review,*” . Obtenido de Trends Food Sci. Technol., vol. 86,: doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.030
- Sánchez, P. (2011). “*Encapsulación de Aceite Esencial de Clavo para su Aplicación en la Industria Alimentaria,*” .
- Santos de Sousa, R. (2016). “*Influência da concentração de óleo Essencial de Alecrim ( Rosmarinus officinalis ) Nas Propriedades de Filmes à Base de Hidroxipropilmetilcelulose ( HPMC ),*” .
- Shahidi, F., & Han, X. (s.f.). “*Encapsulation of food ingredients,*” *Crit. .* Obtenido de Rev. Food Sci. Nutr., vol. 33, no. 6, pp. 501–547, Jan. 1993, : doi: 10.1080/10408399309527645
- Silverstein, R., Webster, F., & Kiemle, D. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th edition*.
- Solis-Quispe, L., & et.al. (2017). “*Composición química y actividad antioxidante de aceites esenciales de Tanacetum vulgare y Mentha x piperita L. var. vulgaris cultivados en Cusco, Perú,*” . *Rev. CENIC. Ciencias Químicas, vol. 48, no. 1, 41–47.*

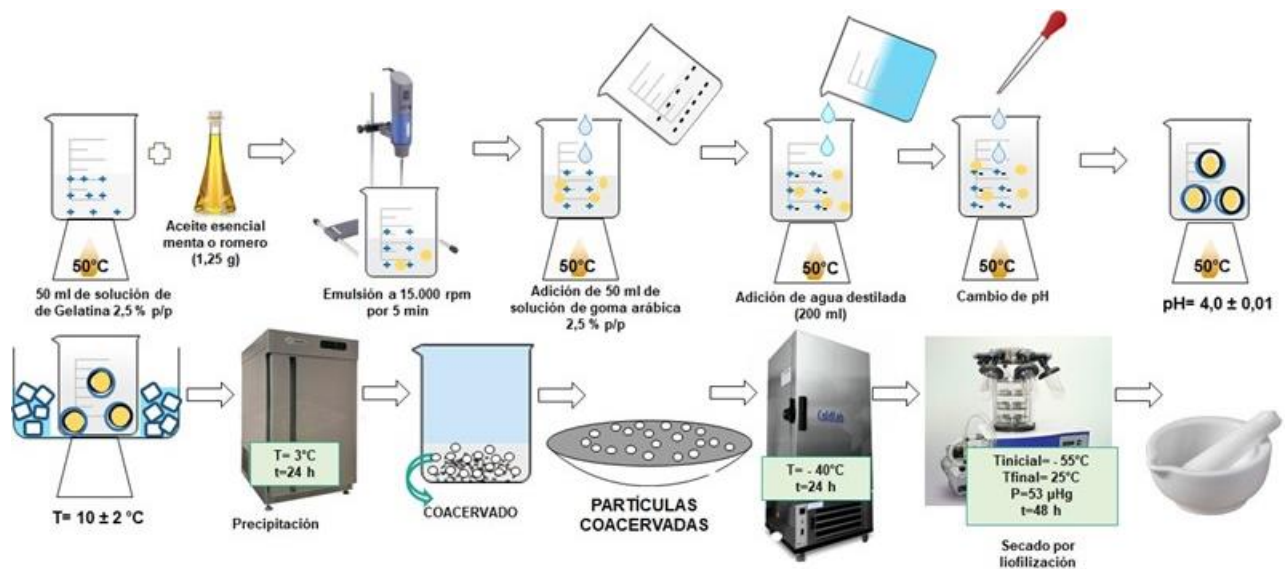
- Tapia Poveda, M. (2017). “*Microencapsulación del Ácido Ascórbico mediante Secado por Aspersión con Almidón y Maltodextrina,*”.
- Teodoro, R., Fernandes, R., Botrel, D., Borges, S., & Souza, A. (Sep. de 2014). “*Characterization of Microencapsulated Rosemary Essential Oil and Its Antimicrobial Effect on Fresh Dough,*” . Obtenido de Food Bioprocess Technol., vol. 7: 10.1007/s11947-014-1302-1
- Timilsena, Y., Akanbi, T., Khalid, N., Adhikari, B., & Barrow, C. (Jan. de 2019). “*Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation,*” . Obtenido de Int. J. Biol. Macromol., vol. 121, pp. 1276–1286, : <http://10.0.3.248/j.ijbiomac.2018>.
- Turasan, H., Sahin, S., & Sumnu, G. (2015). “*Encapsulation of rosemary essential oil,*” *LWT - Food Sci. Technol.* . Obtenido de Technol., vol. 64, no. 1, pp. 112–119, : doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.036
- Universidad de Antioquia. (sf). “*Micro o nanoencapsulación.*”. Obtenido de <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=130052#:~:text=L> as microcápsulas y nanocápsulas son,por el método de coacervación
- Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C. (2014). “*Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation,*”. Obtenido de Food Chem., vol. 158, p. 358–365 : doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.135>
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y., & Fu, Y. (2008). “*Food Chemistry Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L . essential oil compared to its main components,*” vol. 108, pp. 1019–1022,. Obtenido de doi: 10.1016/j.foodchem.2007.11.046
- Widmann, J. (2000). “*Interpretación de curvas; Parte 2: Mediciones isotérmicas,*” . UserCom, vol. 2.

- Yilmaztekin, M., & et.al. (2019). “*Characterisation of peppermint (Mentha piperita L.) essential oil encapsulates,*” . Obtenido de *J. Microencapsul.*, vol. 36, no. 2, pp. 109–119: doi: 10.1080/02652048.2019.1607596
- Zabot, G., Silva, E., Azevedo, V., & Meireles, M. (2016). “*Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds,*” *Food Res. Int.*, vol. 85, p.26–35 . Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.005>
- Zhang, C., Li, Y., Wang, P., Li, J., Weiss, J., & Zhang, H. (2020). “*Core-shell nanofibers electrospun from O/W emulsions stabilized by the mixed monolayer of gelatin-gum Arabic complexes,*”. Obtenido de *Food Hydrocoll.*, vol.107, p.105980: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105980>
- Zuanon, L. (2012). “*Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (curcuma longa l.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado,*” .
- Zuanon, L., Malacrida, C., & Telis, V. (2013). “*Production of turmeric oleoresin microcapsules by complex coacervation with gelatin-gum arabic,*” *J. Food Process Eng.*, vol. 36, no. 3, pp. 364–373, . Obtenido de doi: 10.1111/jfpe.12003

Apéndices

**Apéndice A. Esquema del procedimiento empleado para llevar a cabo la encapsulación de los aceites esenciales (menta y romero) por el método de coacervación compleja.**

Figura 12. Procedimiento empleado para llevar a cabo la encapsulación de los aceites esenciales de menta y romero por el método de CC.



**Apéndice B. Materiales y equipos**

En la Tabla 2 se mencionan los equipos empleados durante la etapa experimental.

Tabla 2. *Equipos utilizados en el proyecto.*

<b>Equipo</b>	<b>Modelo</b>	<b>Fabricante</b>
Balanza analítica	AY 220	Shimadzu
Ultra Turrax	T25	IKA
Agitador magnético	SP-165	SPLABOR
Medidor de pH	Q400AS	Quimis
Ultra freezer	CL 200-86V	ColdLab Ltda.
Liofilizador	L101	Liotop
Microscopio electrónico de barrido	JSM-6390 LV	JEOL
Metalizador	SCD 0005	Baltec
Espectrofotómetro de infrarrojo	Carry 660	Agilent Technologies
Zetasizer Nanosizer	ZS 3600	Malvern Instruments Ltd.
Difractómetro de Rayos X	MiniFlex 600	Rigaku

**Apéndice C. Ficha técnica del aceite esencial de romero.**

Figura 13. Ficha técnica del aceite esencial de romero.



CAS Number: 8000-25-7

INCI: Rosmarinus officinalis Leaf Oil

Item controlado	Especificaciones
Apariencia	Líquido claro
Color	Incoloro a amarillo pálido
Impurezas	Isento
Olor	Característico
Densidad (20°C)	0,900 – 0,930
Índice de Refracción (20°C)	1,460 – 1,475
Rotación Óptica	[-2° ; +6°]
Principales componentes (valores aproximados)	1,8 cineol = 40% Alcanfor = 15% Alfa pineno = 13% Beta pineno = 7% Limoneno = 3%
Obtención	Destilación a vapor de las hojas.
Origen	Marruecos o tunez
Obs.: No contiene OGM ni fue utilizado para teste en animales.	

Recomendaciones Especiales	
Manipulación	Uso de guantes, se recomiendan gafas de seguridad. No ingerir. Evitar el contacto con la piel, los ojos y la mucosa. Si esto ocurre, lave inmediatamente con abundante agua limpia. En caso de derrame, absorba el material derramado con absorbente (arena, tierra).
Riesgos	Producto inflamable a una temperatura superior a 47°C. Puede causar irritación de la piel o alergia.
Incendio	En caso de incendio, use extintor químico seco y agua en forma de niebla, no use chorros de agua para evitar la propagación del producto. Use equipo de protección personal.
Explosividad	No hay peligro en condiciones normales.
Uso	Este producto está diseñado para uso profesional / industrial y, dado que está hecho de sustancias naturales, puede mostrar ligeras variaciones en el color y la cromatografía sin causar ningún problema en el rendimiento del producto.
Almacenamiento	Almacene en un lugar seco, lejos de la humedad y el calor, protegido de la luz, en un recipiente original bien sellado. No reutilice el embalaje vacío.
Transporte	Número de riesgo: 30 / Número ONU: 1169 / Clase o subclase de riesgo: 3 / Descripción de la clase o subclase: Líquidos inflamables / Grupo de embalaje: III.

La información contenida en esta publicación representa lo mejor de nuestro conocimiento. Sin embargo, nada de lo mencionado aquí debe entenderse como una garantía de uso. Los consumidores deben realizar sus propias pruebas para determinar la viabilidad de la aplicación.

Ingeniera Química Responsable: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754

**Apéndice D. Ficha técnica del aceite esencial de menta**

Figura 14. Ficha técnica del aceite esencial de menta.



**FERQUIMA**

**FICHA TÉCNICA**  
**Aceite esencial de Menta Arvensis**  
*(Mentha arvensis)*

CAS Number: 68917-18-0

INCI: Mentha arvensis Leaf Oil

Itens Controlados	Especificações
Apariencia	Líquido Claro
Color	Incoloro a amarillo palido
Impurezas	Exento
Olor	Característico
Densidad (20°C)	0,880 – 0,910
Índice de Refracción (20°C)	1,450 – 1,470
Rotación optica	[-22° ; -13°]
Principales componentes (valores aproximados)	Mentol= 41%                      Mentona= 23% Isomentona= 10%                Neomentol = 7% Acetato de mentila= 4%
Obtención	Destilación a vapor de las hojas.
Origen	China
Obs.: No contiene OGM ni fue utilizado para teste en animales.	

Recomendaciones especiales.	
Manipulación	Uso de guantes, se recomiendan gafas de seguridad. No ingerir. Evitar el contacto con la piel, los ojos y la mucosa. Si esto ocurre, lave inmediatamente con abundante agua limpia. En caso de derrame, absorba el material derramado con absorbente (arena, tierra).
Riesgos	Punto de inflamación: 74°C. Puede causar irritación de la piel o alergia.
Incendio	En caso de incendio, use extintor químico seco y agua en forma de niebla, no use chorros de agua para evitar la propagación del producto. Use equipo de protección personal.
Explosividad	No hay peligro en condiciones normales.
Uso	Este producto está diseñado para uso profesional / industrial y, dado que está hecho de sustancias naturales, puede mostrar ligeras variaciones en el color y la cromatografía sin causar ningún problema en el rendimiento del producto.
Almacenamiento	Almacene en un lugar seco, lejos de la humedad y el calor, protegido de la luz, en un recipiente original bien sellado. No reutilice el embalaje vacío.
Transporte	Número de riesgo: 90 / Número ONU: 3082 / Clase o subclase de riesgo: 9 / Descripción de la clase o subclase: Sustancias peligrosas diversas / Grupo de embalaje: III

La información contenida en esta publicación representa lo mejor de nuestro conocimiento. Sin embargo, nada de lo mencionado aquí debe entenderse como una garantía de uso. Los consumidores deben realizar sus propias pruebas para determinar la viabilidad de la aplicación.

Ingeniera Química Responsable: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754