



---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DEL ESTADO DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ELABORACIÓN DE UN SUPLEMENTO DIETÉTICO A  
BASE DE EXTRACTO DE FRIJOL NEGRO (*Phaseolus  
vulgaris*) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN**

**TESIS**

**Que para obtener el título de:**

**INGENIERO QUÍMICO**

**Presenta:**

**ILSE MARIEL GARCÍA SÁNCHEZ**

**Director:**

**DR. CÉSAR PÉREZ ALONSO**

**Asesor Adjunto:**

**M. en C. JULIÁN CRUZ OLIVARES**

**Toluca, México, Enero de 2013.**

---



Universidad Autónoma del Estado de México  
UAEM

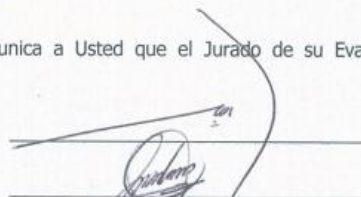
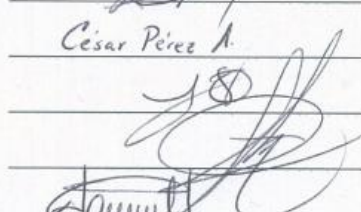
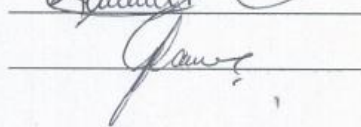
E.P./3º./499/2012

Toluca, México, 2 de agosto de 2012

**P. I. Q. ILSE MARIEL GARCÍA SÁNCHEZ**  
FACULTAD DE QUÍMICA, UAEM.  
P R E S E N T E

La Dirección de la Facultad de Química de la UAEM, comunica a Usted que el Jurado de su Evaluación Profesional, en la modalidad **TESIS**, estará formado por:

M. en C. JOSÉ FRANCISCO BARRERA PICHARDO  
**PRESIDENTE**  
M. en C. JULIÁN CRUZ OLIVARES  
**PRIMER VOCAL**  
Dr. CÉSAR PÉREZ ALONSO  
**SEGUNDO VOCAL**  
Dr. JUAN OROZCO VILLAFUERTE  
**TERCER VOCAL**  
Dr. OCTAVIO DUBLÁN GARCÍA  
**SECRETARIO**  
Dra. MARÍA DOLORES HERNÁNDEZ NAVARRO  
**SUPLENTE**  
Dra. ARACELI AMAYA CHÁVEZ  
**SUPLENTE**

  
César Pérez A.  
  


Sin más por el momento le envío un respetuoso saludo.

ATENTAMENTE  
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO  
"2012, Año Internacional de la Energía Sostenible para Todos"

  
M. en A. P. GUADALUPE OFELIA SANTAMARÍA GONZÁLEZ  
DIRECTORA  


c.c.p. Expediente  
c.c.p. Archivo.

Facultad de Química



Paseo Colón Esq. Paseo Tollocan • Toluca, Estado de México  
Tel. y Fax: (01 722) 2-17-51-09 y 2-17-38-90, e-mail:  
fqum@uaemex.mx

*... No he hecho en cada momento  
nada más que lo que tenía que hacer  
y las consecuencias han sido éstas,  
podrían haber sido otras...*

**José Saramago**

*...Con todo mi amor para mis padres,  
para mis hermanitos con los que aprendí todo de la vida,  
para mi Tío Cato, por la paciencia,  
para mi mejor camarada y único amigo, Mossy,  
para las hermosas mujeres que forman parte de mi...  
Cris, Cinthy, Estefanía, Vero y Lupita,  
y para mi Maestro y mentor Cesar Pérez Alonso...  
porque toda la gratitud del mundo no alcanza  
para una vida junto a ustedes...*

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1. ANTECEDENTES</b>	4
1.1. Suplemento Alimenticio	4
1.1.1. Definición de suplemento alimenticio	4
1.1.2. Características de los suplementos alimenticios	
1.1.2.1. Forma física de la unidad de dosificación	4
1.1.2.2. Adición de nutrimentos específicos	5
1.1.2.3. Envasado y Etiquetado	6
1.1.3. Importancia de los suplementos alimenticios	6
1.2. Nutrimento o Nutriente	7
1.2.1. Definición de Nutrimento o Nutriente	7
1.2.2. Estabilidad de los Nutrientes	8
1.3. Frijol Negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	9
1.3.1. Frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	9
1.3.2. Descripción taxonómica	9
1.3.3. Aporte nutricional del frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	9
1.3.4. Consumo de frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) en México	14
1.4. Encapsulación	15
1.4.1. Definición y usos de la encapsulación	15
1.4.2. Características de las microcápsulas	16
1.4.3. Materiales de encapsulamiento	17
1.4.4. Técnicas de encapsulamiento	20
1.5. Evaluación del suplemento alimenticio	26
1.5.1. Evaluación Físicoquímica	26
1.6. Compuestos Fenólicos	32
1.6.1. Actividad Antioxidante	38
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	41

<b>3. OBJETIVOS</b>	43
3.1. Objetivo General	43
3.2. Objetivos Particulares	43
<b>4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>	45
<b>5. METODOLOGÍA</b>	47
5.1. Materiales	47
5.2. Formulación de soluciones conteniendo el extracto de frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	47
5.3. Formación de Microcápsulas	48
5.4. Distribución del tamaño promedio de partícula de las microcápsulas	48
5.5. Morfología de las microcápsulas	48
5.6. Acondicionamiento de las microcápsulas	49
5.7. Estabilidad de la capacidad antioxidante del extracto de frijol negro contenido en las microcápsulas	49
5.8. Formulación del suplemento alimenticio	50
5.9. Propiedades organolépticas del suplemento alimenticio	50
5.10. Solubilidad en agua del suplemento alimenticio	51
5.11. Determinación de contenido de humedad	50
5.12. Desintegración	52
5.13. Disolución	52
5.14. Prueba de identificación cualitativa de compuestos fenólicos en el suplemento alimenticio	53
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	55
6.1. Propiedades y características de las microcápsulas	55
6.1.1. Tamaño de partícula de las microcápsulas	55
6.1.2. Morfología de las microcápsulas	55
6.2. Evaluación de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulada y acondicionada a distintas temperaturas y actividades de agua	57
6.3. Evaluación del suplemento alimenticio	65
<b>7. CONCLUSIONES</b>	74
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Porcentajes de nutrientes provenientes del Frijol Negro ( <i>Phaseolus Vulgaris</i> ) por gramos consumidos.	10
Figura 1.2. Diagrama de elemento de agitación de canastilla para prueba de disolución.	30
Figura 1.3A Estructura química general de diversos compuestos fenólicos.	34
Figura 1.3B Estructura química general de las antocianinas.	34
Figura 1.3C Estructura química general de las chalconas.	35
Figura 1.3D Estructura química general de las flavonas.	35
Figura 1.3E Estructura química general de los flavonoles.	36
Figura 1.3F Estructura química general de las flavononas.	36
Figura 1.3G Estructura química general de los isoflavonoides.	37
Figura 6.1. Morfología de las microcápsulas a base de goma arábica	56
Figura 6.2. Morfología de las microcápsulas a base de goma de mezquite.	57
Figura 6.3. Valores de parámetros L*, a*, b*, x, y, z para microcápsulas a base de goma arábica y goma de mezquite, vehículo y contenido de cápsulas de suplemento alimenticio.	65

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 6.1. Actividad antioxidante de la testa de frijol negro en las microcápsulas acondicionadas a T=25°C	59
Gráfico 6.2. Actividad antioxidante de la testa de frijol en las microcápsulas acondicionadas a T=35°C	60
Gráfico 6.3. Curva de calibración para prueba de disolución de suplemento alimenticio.	66
Gráfico 6.4. Perfil de disolución del suplemento alimenticio con extracto de testa de frijol negro	70
Gráfico 6.5. Gráfico de identificación espectrofotométrica de extracto de testa de frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	71
Gráfico 6.6. Gráfico de identificación espectrofotométrica de suplemento alimenticio con extracto de testa de frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	72



**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.1.	Técnicas de Microencapsulación y sus principales etapas.	20
Tabla 1.2.	Referencia de partes de soluto por partes de disolvente en la determinación de solubilidad.	30
Tabla 1.3.	Tabla de aceptación para una muestra combinada en pruebas de disolución.	31
Tabla 1.4.	Zonas de identificación de compuestos antioxidantes.	32
Tabla 5.1.	Formulación del suplemento alimenticio de frijol negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	50
Tabla 6.1.	Actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulado previo al inicio del acondicionamiento.	58
Tabla 6.2.	Valores de coeficiente de correlación, orden de reacción y constante de velocidad para la degradación polifenólica en acondicionamiento a T=25°C	61
Tabla 6.3.	Valores de coeficiente de correlación, orden de reacción y constante de velocidad para la degradación polifenólica en acondicionamiento a T=35°C	62
Tabla 6.4.	Tiempos de vida medio de la actividad antioxidante de la testa de frijol microencapsulado y acondicionado a T=25°C y T=35°C.	63
Tabla 6.5.	Datos de la curva de calibración para la prueba de disolución del suplemento alimenticio.	66
Tabla 6.6.	Absorbancias mediadas durante los muestreos de la prueba de disolución cada 5 minutos.	67
Tabla 6.7.	Concentración de suplemento alimenticio en cada vaso a través del tiempo expresado en g/900 ml.	68
Tabla 6.8.	Porcentaje disuelto de suplemento alimenticio en cada vaso a través del tiempo.	69
Tabla 6.9.	Detalle de pesos iniciales de las capsulas utilizadas para la prueba de disolución.	69

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue elaborar un suplemento alimenticio enriquecido con vitaminas, minerales y antioxidantes, estos últimos provenientes de la testa de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), se eligieron los antioxidantes provenientes de esta leguminosa debido a que es un alimento básico en el consumo de la dieta del mexicano y del centroamericano.

La etapa inicial de este trabajo consistió en obtener un extracto acuoso de la testa del frijol negro empleando agua como disolvente, para posteriormente determinar la actividad antioxidante del extracto. Mediante el empleo de dos biopolímeros como agentes encapsulantes: goma Arábica y goma de mezquite se procedió a formular disoluciones al 30% w/w con el extracto para secarlas por aspersion y obtener microencapsulados con el objeto de preservar la actividad antioxidante del frijol. Los encapsulados se acondicionaron a dos temperaturas 25 y 35 °C distintas actividades de agua para evaluar la capacidad de protección de ambos biopolímeros respecto a la actividad antioxidante, para ello se establecieron cinéticas de degradación de la capacidad antioxidante y se determinaron el orden de reacción, constante de velocidad de degradación y tiempo de vida medio y de esta forma establecer el encapsulado con el cual se trabajaría en la formulación del suplemento dietético. El análisis de la degradación se llevo a cabo espectrofotométricamente empleando el método analítico de DPPH y se monitorearon los encapsulados semanalmente por espacio de 7 semanas, una vez que alcanzaron condiciones de equilibrio.

Los resultados mostraron que las microcápsulas preparadas con goma de mezquite presentan tiempos de vida medio superiores a los 70 días, por lo que se selecciono dicho encapsulado para la preparación del suplemento dietético, él cual se formuló a partir de un sustrato de harina de soya y carbonato de calcio, un 10% de extracto de frijol negro encapsulado, adicionando vitaminas y minerales a partir de las concentraciones máximas permitidas por la legislación mexicana para suplementos dietéticos, esta mezcla se colocó en cápsulas de gelatina blanda en cantidades de 500 mg cada una.

Posteriormente se procedió a la evaluación del suplemento dietético según los parámetros que se establecen en la Farmacopea de los Estados Unidos de América, apartado de

Suplementos Dietéticos, obteniendo un perfil de disolución de comportamiento cuasi-lineal con un 90% de suplemento disuelto en alrededor de 45 minutos, un tiempo de desintegración de 38 minutos y un porcentaje de humedad del 3.73%, parámetros considerados como aceptables para preparados a base de fármacos deshidratados.

En base a los resultados del análisis de capacidad antioxidante, tiempos de vida medios y la posterior evaluación del suplemento dietético, se considero que se obtuvo un producto eficaz con actividad antioxidante gracias a su contenido de compuestos fenólicos.

## INTRODUCCIÓN

Los suplementos alimenticios son productos cuya principal característica es contener al menos un “ingrediente alimenticio” destinado a complementar la alimentación, corregir o prevenir deficiencias de ciertos nutrimentos, y así mejorar el estado general de la salud; en algunos casos se adicionan con vitaminas, minerales, aminoácidos o enzimas para elevar su aporte nutricional, y por ende beneficiar al organismo al ser consumidos. Los suplementos alimenticios se presentan en tabletas, grageas, cápsulas suaves de gelatina, cápsulas de gelatina, líquidos y polvos dependiendo de diversos factores inherentes al producto como la presentación del producto, el envasado, su forma de uso. No se presentan como sustitutos de un alimento ni como único componente de la dieta alimenticia.

Los nutrientes son susceptibles a degradarse por la acción de factores ambientales o durante el procesamiento, por lo cual es importante protegerlos para poder integrarlos de manera funcional a productos como los suplementos dietéticos y que estos nutrientes sean posteriormente absorbidos y metabolizados por el organismo, manteniéndose en condiciones óptimas durante su procesamiento, almacenamiento y uso.

La encapsulación es una tecnología que se ha aplicado para preservar y proteger diversos ingredientes. Mediante esta tecnología un material particular puede ser cubierto de manera individual para protegerle del ambiente, de la reacción con otros compuestos o para impedir que sufran reacciones que degraden su estructura. La principal ventaja es que un encapsulado se liberará gradualmente obteniéndose productos alimenticios de mejores características sensoriales y nutricionales.

Una técnica de encapsulación es el secado por aspersión cuyo principio es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión o una solución en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente permitiendo que el material activo presente en la emulsión o solución quede atrapado en el material

encapsulante. Los principales materiales utilizados como encapsulantes son: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados); gomas (mezquite, Arábica, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas); proteínas (gelatina, proteína de soya, suero de leche).

Una manera de cuantificar la capacidad de protección de los distintos agentes encapsulantes que existen en el mercado es mediante un estudio cinético de degradación del material encapsulado. En este trabajo se determinó la actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulada en dos hidrocoloides naturales (goma Arábica y goma de mezquite). Los antioxidantes provenientes de la testa de frijol encapsulados se incorporaron a un dietético enriquecido con vitaminas y minerales. Al suplemento se le evaluó su funcionalidad y factibilidad de ser comercializado para consumo humano.

# **ANTECEDENTES**

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. SUPLEMENTO ALIMENTICIO.

#### 1.1.1. Definición de Suplemento Dietético.

Los suplementos alimenticios o nutricionales son productos que se añaden a un régimen alimenticio, su forma de ingestión es oral y en general están constituidos por uno o varios nutrientes con el fin de complementar la ingesta diaria de vitaminas, minerales, aminoácidos, etc., además también pueden utilizarse para corregir o prevenir deficiencias en la dieta todo con el fin de mejorar el estado general de la salud y complementar la alimentación diaria (Caldera, 1994, Umhau *et al.*, 2012).

#### 1.1.2. Características de los Suplementos Alimenticios.

##### 1.1.2.1 Forma Física de la unidad de dosificación.

Los suplementos alimenticios son fuentes concentradas de nutrientes, solos o combinados, que se comercializan en diversas formas físicas como:

- **Cápsulas:** el suplemento alimenticio se encuentra contenido en un recubrimiento soluble hecho a base de gelatina que se administra por vía oral, cuya ventaja respecto a las tabletas es que se desintegran más rápidamente en presencia de los líquidos gástricos y diferentes medios de disolución<sup>1</sup>, la única desventaja que se considera es que puede presentarse un tiempo de absorción variable.
- **Tabletas:** el suplemento alimenticio se presenta como comprimido, con una forma sólida y definida. La vía de administración de igual manera que para las cápsulas es oral.

<sup>1</sup> Agua, Solución de HCl 0.1 N, Solución HCl 0.1 N SDS 2%.

- **Polvos:** el suplemento alimenticio se presenta en forma de polvo cuando la finalidad de la presentación radica en la incorporación del mismo a un líquido de consumo diario o en formar una bebida a base del producto.
- **Soluciones:** el suplemento alimenticio se presenta como una mezcla homogénea donde el producto es el soluto y está en menor cantidad que la sustancia en la que se disuelve denominada solvente.

Se está previsto que los suplementos dietéticos se tomen en pequeñas cantidades unitarias medidas y no como alimentos convencionales. Su finalidad es complementar y no sustituir ningún alimento o manejarse como único componente de un régimen dietético.

#### **1.1.2.2 Adición de Nutrientos Específicos.**

Los suplementos alimenticios pueden contener vitaminas/provitaminas, aminoácidos, antioxidantes y minerales cuyo valor nutricional se haya demostrado con datos científicos y que la FAO y la OMS reconozcan como nutrientes.

Dichos nutrientes podrán proceder de fuentes naturales o sintéticas y su selección debe basarse en criterios como la inocuidad y la biodisponibilidad. Además los criterios de pureza para dichas sustancias deberán estar sometidos a lo establecido por farmacopeas, o criterios internacionales reconocidos (Caldera, 1994; Cohen, 2012).

Algunos suplementos alimenticios están formulados a partir de extractos herbales, los cuales tienen un alto contenido en nutrientes y son capaces de proveer beneficios a la salud, además pueden estar adicionados con vitaminas y minerales cuya función es incrementar el aporte nutricional del producto.

Los suplementos alimenticios pueden contener una o todas las vitaminas y minerales que satisfagan los criterios bajo los cuales sea diseñado el producto y deberán estar dentro de las dosis diarias permitidas por la normatividad vigente de los países en los que se



distribuya el producto; para el caso de México, éstas están contenidas en la Ley General de Salud y en el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios.

La cantidad mínima de cada vitamina y/o mineral contenidos en un suplemento dietético adicionado con vitaminas y minerales, por porción diaria de consumo según la indique el fabricante, deberá ser equivalente al 15 por ciento de la ingesta diaria recomendada determinada por la FAO/OMS (Caldera, 1994).

### **1.1.2.3 Envasado y Etiquetado.**

El producto deberá envasarse en recipientes que protejan la higiene y demás cualidades de funcionalidad del producto y deberá etiquetarse conteniendo los siguientes criterios:

- Indicarse la porción del producto recomendada para el consumo diario.
- La cantidad de vitaminas y minerales deberán expresarse como un porcentaje de los valores de referencia contenidos en la normatividad.
- La modalidad de uso del producto
- Deberá presentar leyendas precautorias, de advertencia e informativas según la naturaleza del producto.

### **1.1.3. Importancia de los Suplementos Alimenticios.**

En ocasiones una dieta balanceada no otorga el aporte nutrimental necesario para mantener saludable nuestro organismo, por lo que es necesario recurrir a suplementos alimenticios que al ser complementos concentrados de vitaminas, minerales, aminoácidos, además de otros, ayudan a corregir o prevenir deficiencias que causen daños a nuestro cuerpo, por lo que son utilizados como auxiliares en tratamientos de ciertas afecciones.

## **1.2. Nutrimiento o Nutriente.**

### **1.2.1. Definición de nutrimento o nutriente.**

Son compuestos orgánicos e inorgánicos contenidos en los alimentos, que participan activamente en las reacciones metabólicas para mantener las funciones del organismo y que de acuerdo con su naturaleza se clasifican en los siguientes tipos:

- **Proteínas:** Están formadas por cadenas lineales de aminoácidos, son imprescindibles para el crecimiento del organismo, casi todos los procesos biológicos dependen de la presencia o actividad de este tipo de moléculas.
- **Carbohidratos:** Moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, fuente de almacenamiento y consumo primario de energía, son solubles en agua y se clasifican de acuerdo a la cantidad de carbonos o por el grupo funcional aldehído que contienen.
- **Lípidos:** Conjunto de moléculas orgánicas, formadas principalmente por carbono e hidrógeno, son hidrofóbicas o insolubles en agua y solubles en disolventes polares como el benceno y el cloroformo. Sus principales funciones en el organismo son la de fungir como reserva energética, formar parte de algunas estructuras y la de regular ciertos procesos.
- **Vitaminas:** La mayoría de las vitaminas no pueden ser sintetizadas por el organismo, por lo que solo puede obtenerlas mediante la ingesta equilibrada de vitaminas contenidas en los alimentos naturales. Las vitaminas son nutrientes que junto a otros elementos nutricionales actúan como catalizadoras de todos los procesos fisiológicos ya sea directa o indirectamente. En los seres humanos hay 13 vitaminas, 9 hidrosolubles (8 del complejo B y la Vitamina C) y 4 liposolubles (A, D, E, K).

- **Minerales:** Son moléculas inorgánicas de fácil ionización en presencia de agua, los principales minerales presentes en el ser humano son calcio, fósforo, hierro, flúor, yodo, zinc y magnesio, y aparecen de las siguientes formas según la función que realizan en el organismo:
  - Precipitadas: Las sales minerales forman estructuras duras, que proporcionan estructura o protección al ser que las posee.
  - Disueltas: Se encuentran disueltas en agua y presentan carga positiva o negativa. Estas tienen como principales funciones mantener el grado de salinidad, amortiguar cambios de pH, controlar la contracción muscular, entre otras.
  - Asociadas a moléculas orgánicas: El ión de las sales puede asociarse a moléculas, realizando funciones que tanto el ión como la molécula no realizarían por separado.

Dentro de esta categoría se considera también a la fibra dietética, la cual no es un nutrimento propiamente pero aporta importantes beneficios al proceso de asimilación y excreción de los alimentos, y a los antioxidantes que otorgan beneficios al organismo ya que inhiben la acción de los radicales libres (Vázquez y López-Nomdedeu, 2005 ).

### **1.2.2. Estabilidad de los nutrientes.**

La mayor parte de los nutrientes descritos anteriormente son sensibles a factores ambientales o propios de los procesos a los que son sometidos los alimentos ya sea a nivel industrial o doméstico, uno de los principales agentes que deterioran a los nutrientes contenidos en los alimentos son las variaciones de temperatura y actividad de agua.

Estas variaciones afectan la estructura de las moléculas que constituyen los nutrientes, limitando su absorción en el organismo, asimismo elimina la capacidad de éstos para participar en las reacciones biológicas para los que son requeridos. Existen diversos

alimentos con altos contenidos nutricionales, los cuales proveen al organismo beneficios y ayudan a mejorar el estado de salud de quien los consume; uno de ellos es el frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) el cual fue seleccionado para formar parte en la elaboración de un suplemento alimenticio enriquecido con antioxidantes provenientes de la testa del frijol, además de vitaminas y minerales.

### **1.3. FRIJOL NEGRO (*Phaseolus vulgaris*).**

#### **1.3.1. Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris*).**

Los frijoles negros son las semillas comestibles de *Phaseolus vulgaris* L., perteneciente a la familia de las leguminosas. Es una planta originaria de América que se cultiva actualmente en todo el mundo (Serrano *et al.*, 2004; Ambigaipalan *et al.*, 2011).

#### **1.3.2. Descripción Taxonómica.**

**REINO:** Plantae

**DIVISIÓN:** Magnoliophyta

**CLASE:** Magnoliopsida

**ORDEN:** Fabales

**FAMILIA:** Fabaceae

**GÉNERO:** Phaseolus

**ESPECIE:** vulgaris

**NOMBRE COMÚN(ES)**

Frijol PASO DE OVEJAS

Frijol del ratón PINAL DE AMOLES

Frijol negro ND

Frijol negro TLAHUAC

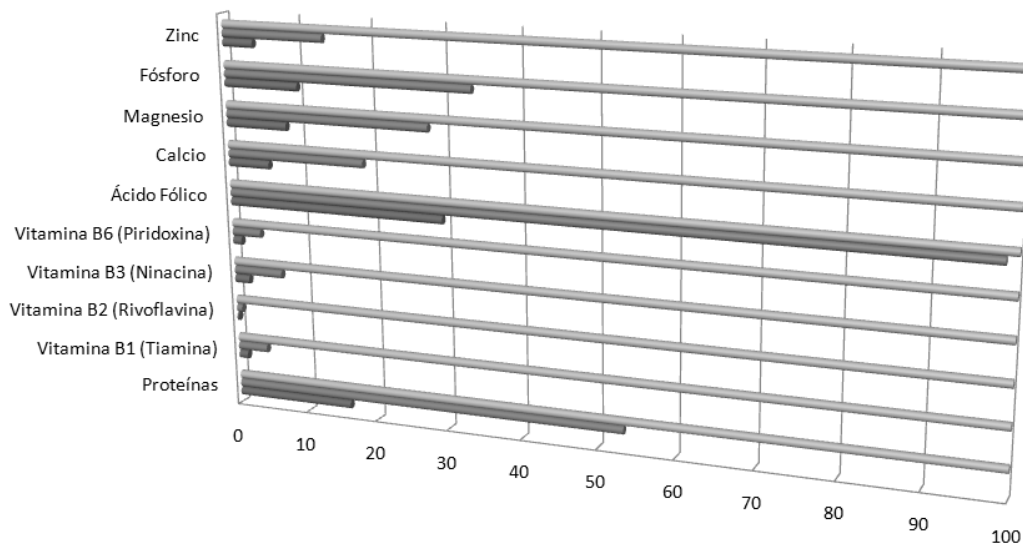
#### **1.3.3. Aporte Nutricional del Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris*).**

El frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) es una leguminosa con un alto contenido en proteínas, carbohidratos y minerales. Los carbohidratos son los principales componentes del frijol. La

mayor parte son carbohidratos complejos almidón y fibra dietética (Serrano *et al.*, 2004; Ovando-Martínez *et al.*, 2011).

En la figura 1.1 se presenta los porcentajes de vitaminas, minerales y proteínas encontrados en raciones de 100 g/día de frijol negro y 30.14 g/día (correspondiente a los 11 kg anuales consumidos por persona en México), respecto a los valores de la Ingesta Diaria Recomendada para la población Mexicana establecidos en el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (Ley General de Salud, *Apéndice XVII Suplementos Alimenticios, Fracciones XVII.1.1 y XVII.1.2*, 1999).

**% IDR de Nutrientes provenientes del Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris*) por Consumo**



	Proteínas	Vitamina B1 (Tiamina)	Vitamina B2 (Rivoflavina)	Vitamina B3 (Ninacina)	Vitamina B6 (Piridoxina)	Ácido Fólico	Calcio	Magnesio	Fósforo	Zinc
■% IDR para la Población Mexicana	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
■% IDR por consumo de 100 g	53.3	4.1	0.8	6.8	4.0	98.5	19.0	28.0	33.9	14.0
■% IDR por Consumo Promedio en México	16.1	1.2	0.2	2.0	1.2	29.7	5.7	8.4	10.2	4.2

**Figura 1.1.** Porcentajes de nutrientes provenientes del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) por gramos consumidos.

Se puede observar que 100 g de frijol negro aporta casi el total de los requerimientos diarios de ácido fólico, más de la mitad del contenido proteínico necesario y alrededor de un tercio de los minerales como zinc, fósforo, magnesio y calcio.

América Latina es en particular, la zona de mayor producción y consumo de frijol; en México, se producen 1.4 millones de toneladas de frijol, lo que representa aproximadamente un consumo de 13.6 kg de frijol per capita (Rosales, 2005).

Esta leguminosa es una fuente de proteína (13-33%), vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico), fibra dietética (14-19%), macro y micro minerales (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K, Mg), no contiene colesterol y es alto en hidratos de carbono complejos (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993; Rehman *et al.*, 2001). El consumo de frijol se ha relacionado con la reducción en el riesgo padecer de diabetes y cáncer de colon, debido a su alto contenido en fibra (Geil y Anderson, 1994; Bourdon *et al.*, 2001; Carrasco-Castilla *et al.*, 2012).

El frijol negro también contiene un alto contenido de compuestos polifenólicos y antocianinas principalmente del tipo no acilado que pueden utilizarse como antioxidantes naturales, entre las más importantes identificadas en la testa del frijol son Delfinidina 3-glucósido 65.7%, Petunidina 3-glucósido 24.3% y Malvidina 3-glucósido 8.7% (Salinas-Moreno *et al.*, 2005; Akond *et al.*, 2011).

Las antocianinas poseen capacidad antioxidante que ha sido asociada a la inhibición de la acción de los radicales libres, ayudando a prevenir ciertas afecciones. La presencia de compuestos fenólicos como las antocianinas en el grano de frijol negro, lo hace un producto potencial para el suministro de pigmentos y antioxidantes naturales, así como diversas aplicaciones en la industria de alimentos. Por lo cual se ha despertado interés en el estudio de los pigmentos provenientes frijol negro. En el grano entero de frijol negro se han encontrado 213 mg/100 g de antocianinas, y en la testa 2.37 g 100/g (Takeoka *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 2009). Los frijoles sirven como una buena fuente de proteínas y carbohidratos, a pesar de que contienen una serie de factores antinutricionales, como los fitatos, inhibidores de enzimas, las lectinas y taninos, entre otros.

Los glucósidos flavonoides, los taninos y las antocianinas son responsables de la pigmentación color de la cáscara de la semilla en frijoles secos (Beninger y Hosfield, 2003;

Beninger *et al.*, 1998,1999; Takeoka *et al.*, 1997; Tibe *et al.*, 2011). Los taninos presentes en los granos y las legumbres han recibido considerable atención debido a sus posibles implicaciones fisiológicas y nutricionales, las funciones bioquímicas, y las influencias en las cualidades estéticas de los alimentos (Deshpande y Cheryan, 1987; Reddy *et al.*, 1985; Berard *et al.*, 2011).

Sosulski y Dabrowski (1984) reportaron que las harinas desgrasadas de 10 leguminosas contienen sólo ésteres solubles de ácidos trans-ferúlico, trans-p-cumárico y siríngico. Las leguminosas como el frijol, guisantes, habas y lentejas contienen 18 a 31 mg de ácidos fenólicos totales por kilogramo, mientras que en la marina de frijoles, altramuces, habas, garbanzos y el caupí, el contenido total de fenólicos varía desde 55 hasta 163 mg / kg (Sang *et al.*, 2011).

Hertog *et al.* (1992) informaron que después de la hidrólisis de los glucósidos, los frijoles contienen 39 mg de quercetina por kilogramo y menos de 12 mg de kaempferol por kilogramo de muestra. Hempel y Bohm (1996) informaron que el 3-O-glucurónidos y 3-O-rutinosides de quercetina y kaempferol son los glucósidos flavonoides principales en seis variedades de judías amarillas y verdes. En el trabajo anteriormente citado, se refiere que el contenido total de la quercetina y kaempferol-3-O-glucósidos fue de 19,1 a 183,5 y de 5,6 a 14,8 mg / kg de la muestra, respectivamente, sin embargo el contenido de flavonoides depende del tipo y variedad de leguminosa (Shun-Cheng *et al.*, 2011).

Beninger y Hosfield (1999) identificaron tres glucósidos de flavonoles que contribuyen con la pigmentación de la cáscara de la semilla de frijol rojo oscuro, quercetina, 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosido-(2 $\rightarrow$ 1)-O- $\beta$ -D-xilopiranosido, y quercetina 3-O- $\beta$ -D-glucopiranosido.

Takeoka *et al.* (1997) Informaron que delphinidina 3-O-glucósido, la malvidina 3-O-glucósido, y petunidina 3-O-glucósido son las antocianinas principales responsables de la pigmentación negra y púrpura de la cáscara de la semilla de frijol.

Los taninos condensados, ubicados principalmente en la cubierta de la semilla o testa de

habas y guisantes, a menudo se consideran factores antinutricionales. El contenido de taninos en habas y los guisantes se observa hasta un 2% expresado en contenido de catequinas o equivalentes ácido tánico.

El contenido medio de taninos en ocho cultivares de frijol es del 4.3% (Marquardt *et al.*, 1978), en el caupí en intervalos del 0 a 0.7% y en los garbanzos entre 0 y el 0.2% (Price *et al.*, 1980; Díaz *et al.*, 2010).

Los taninos en los granos son polímeros lineales de flavan-3-ol (catequina y galocatequina) y flavan-3-4-diol (leucocyanidina y leucodelphinidina). Estas unidades son unidas por enlaces carbono-carbono se forma entre el carbono 4 de una unidad y de carbono-6 -8 o de otro (Martin-Tanguy *et al.*, 1977).

Con base en la diferencia de solubilidad en metanol y éter, los taninos de frijol se pueden fraccionar en cuatro grupos en función de su grado de polimerización (Cansfield *et al.*, 1980; Beninger y Hosfield, 2003). Hay diferencias en el contenido de taninos condensados de frijoles, según en el color de la cubierta de la semilla. Las variedades blancas de frijoles por lo general contienen menores concentraciones de taninos que aquellos de testa roja, semillas de color negro o bronce (Bressani y Elias, 1980; Elias *et al.*, 1979; Guzmán-Maldonado *et al.*, 1996).

No se encontró ninguna correlación entre la pigmentación de la cáscara de la semilla o el tamaño de la semilla y el contenido de taninos, aunque existe una correlación positiva entre la concentración de taninos en la cubierta de la semilla y la actividad de los inhibidores de tripsina (Elias *et al.*, 1979).

El contenido de taninos de los granos disminuye durante la maduración de la semilla. Los frijoles maduros (80 a 85 días después de la floración) contienen aproximadamente un 50% menos que los cosechados 40 días después de la floración (Kadam *et al.*, 1982) y del genotipo de las semillas precursoras (Valdés *et al.*, 2011). Estos cambios en el contenido de



tanino pueden atribuirse a la polimerización de los compuestos polifenólicos de alto peso molecular.

El remojo los frijoles antes de cocinarlos es una práctica común. Una serie de estudios se han llevado a cabo para determinar el efecto de la cocción de los factores antinutricionales de los frijoles. Se ha informado que cocinar reduce el contenido de taninos en un 30 a un 40% (De España, 1977), Por otro lado el remojo y los diferentes tratamientos han originado que haya cambios en la composición de compuestos fenólicos en el frijol y esto se ven reflejado en modificaciones en los valores de actividad antioxidante (Xu y Chang, 2008).

Por lo tanto, se ha sugerido que los cambios en el contenido de compuestos fenólicos puede ser consecuencia de la unión de compuestos fenólicos con otros materiales orgánicos, o la alteración de la estructura química de los compuestos fenólicos, lo que les permite dar una reacción de color con el reactivo Folin-Denis (Bressani *et al.*, 1980). Este postulado fue confirmado por los resultados de los estudios de Bressani *et al.* (1982) en la partición de compuestos fenólicos durante la cocción de los granos. Se indico que del 37.4 a 66.7% del total de los compuestos fenólicos de los granos en bruto se mantuvo en frijoles cocidos y que el agua de cocción contenía menos del 20% de polifenoles totales.

El contenido de taninos de los granos puede ser reducido por la eliminación de los cascos o el remojo. Remojar los frijoles en el agua reduce el contenido de taninos entre un 34 y un 67.5% después de 6 horas (De Lumen *et al.*, 1980) y 24 horas de tratamiento, respectivamente (Sathe *et al.*, 1981).

#### **1.3.4. Consumo de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) en México.**

El frijol es uno de los alimentos más antiguos, fue una de las primeras plantas domesticadas por la agricultura primitiva en América, se cree que es originario del sur de México y fue propagado por las migraciones a Centroamérica y Sudamérica.

En toda Mesoamérica los cultivos de frijol, maíz, calabaza y chile constituyeron la fuente alimentaria principal de las poblaciones asentadas en dichos territorios en donde se tenía un sistema de siembra organizado al igual que un tipo de almacenamiento en el que se contemplaban los tiempos de escases, se conoce también que las semillas de frijol fueron llevadas por los españoles a Europa, y comercializados en la región de África Oriental por los portugueses, para posteriormente ser diseminadas por los árabes en todo el continente africano.

El frijol constituye uno de los alimentos principales en la dieta básica de los mexicanos gracias a su alto valor nutricional y a la disponibilidad de este producto en el territorio nacional. El consumo de frijol se presenta mayoritariamente en países en vías de desarrollo en donde la población busca adquirir productos con un alto valor proteico a precios accesibles.

Es importante mencionar que en los últimos años, se ha visto disminuido el consumo de esta oleaginosa debido a las migraciones donde los pobladores van del campo a la ciudad, modificando sus hábitos alimenticios, sustituyendo al frijol por otros productos.

Debido a la importancia del frijol en la dieta mexicana y su importante aporte nutricional, se han desarrollado métodos para proteger los nutrimentos contenidos en él y así poder procesarlos manteniendo sus atributos por mayores periodos de tiempo y protegidos de la degradación por efecto de cambios de temperatura, pH, actividad de agua, entre otros, sin perder los beneficios otorgados por los alimentos en estado natural. Uno de estos procedimientos es la microencapsulación.

#### **1.4. Encapsulación.**

##### **1.4.1. Definición y usos de la Encapsulación.**

La encapsulación es una tecnología a través de la cual un material activo es envuelto con una película continua y compacta de un polímero o es uniformemente distribuido en la

matriz del material encapsulante (Ré, 2006; Fang y Bhandari, 2010). Consiste en la incorporación de materiales alimentarios, enzimas, células u otros materiales en pequeñas cápsulas, ofrece, entre otros beneficios un medio para proteger los componentes sensibles de los alimentos garantizando que no exista una pérdida significativa del valor nutricional (Gharsalloui *et al.*, 2007).

Mediante la encapsulación, aditivos volátiles como vitaminas, proteínas, sabores o aromas pueden convertirse en ingredientes estables (Desai *et al.*, 2005). La industria alimentaria emplea esta técnica por diversas razones, como son:

- El recubrimiento puede proteger al material de la base de la degradación por la reducción de su reactividad con su entorno exterior (por ejemplo el calor, la humedad, el aire, la luz).
- La evaporación o la velocidad de transferencia del material encapsulado con el medio exterior se reduce.
- Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacerlo más fácil de manejar.
- El sabor de un material puede ser enmascarado.
- El material encapsulado puede ser diluido logrando una dispersión uniforme en el material encapsulante.
- Puede ser empleado para separar materiales de una mezcla que de otra forma reaccionasen entre sí.

#### **1.4.2. Características de las microcápsulas.**

Las microcápsulas poseen una estructura compuesta por dos elementos, la porción activa a la cual se le denomina núcleo y un material encapsulante que envuelve al primero denominado coraza, la cual puede variar en su espesor o en el número de capas, el material utilizado para la constitución de la coraza puede ser de origen natural o sintético. (Madene *et al.*, 2006). El tamaño de la microcápsula formada puede variar desde unos pocos milímetros a menos de 1  $\mu\text{m}$  (Ré, 1998; Rodríguez-Huezo *et al.*, 2004).

Varias propiedades de las microcápsulas pueden ser modificadas para adaptarse a aplicaciones específicas algunas de estas son la composición, el mecanismo de liberación, el tamaño de partícula, la forma física final y el costo.

La elección de los materiales de la coraza dependen de una serie de factores entre ellos: los objetivos y requisitos esperados del producto, la naturaleza del núcleo, el proceso de encapsulación, la economía y si el material de revestimiento está aprobado por la Food and Drug Administration (EE.UU.) o European Food Safety Authority (Europa) (Amrita *et al.*, 1999).

En el diseño del proceso de encapsulación deben considerarse lo siguiente:

- Funcionalidad de los ingredientes encapsulados respecto al producto final.
- El ingrediente encapsulado mantendrá sus propiedades después del proceso de transformación.
- Determinar la concentración óptima del principio activo en la microcápsula.
- Determinar el tamaño de partícula, la densidad y requisitos de estabilidad para el material encapsulado.
- Limitaciones de costo del ingrediente encapsulado.

### **1.4.3. Materiales de Encapsulamiento.**

Los materiales de encapsulamiento (agentes encapsulantes, materiales de pared, coraza) se seleccionan en base a criterios como la naturaleza química de los componentes a encapsular, la tecnología de encapsulación que se utilice y el uso para el cual están previstas las microcápsulas, en el caso de alimentos es importante considerar que la coraza debe ser comestible, no tóxica, inerte y libre de olores fuertes (Ré, 1998).

Se puede seleccionar entre una amplia gama de polímeros naturales y sintéticos, en función del material a recubrir y de las características deseadas de la microcápsula final. La

composición del material recubriente es el principal determinante de las propiedades funcionales de la microcápsula y de cómo se puede utilizar para mejorar el rendimiento de un ingrediente en particular (Desai *et al.*, 2005).

Un material recubriente deseable debe tener las siguientes características (Pedroza-Islas *et al.*, 1999):

1. Buenas propiedades reológicas, alta concentración.
2. La capacidad de dispersar o emulsionar el material activo, además de la capacidad de estabilizar a la emulsión.
3. No debe interaccionar o reaccionar con el material activo durante el proceso o el almacenamiento.
4. Habilidad para sellar y mantener en su estructura el material activo durante el procesamiento y el almacenamiento.
5. Capacidad de liberar completamente el disolvente u otros materiales utilizados durante la encapsulación, secado u otras condiciones.
6. Proporcionar la máxima protección a la materia activa a los factores ambientales.
7. Solubilidad en disolventes adecuados para la industria alimentaria.
8. No debe reaccionar químicamente con los componentes del núcleo activo.
9. Asequible, en calidad grado alimenticio.

Existe un gran número de agentes encapsulantes, pero cada uno de estos materiales tiene sus limitaciones basados en el proceso de encapsulación utilizado o de la funcionalidad de éste con el material encapsulado, los principales son (Madene *et al.*, 2006; López-Franco *et al.*, 2006):

- **Carbohidratos** (almidón, maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, ciclodextrinas)
- **Esteres y éteres de celulosa** (Carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa)
- **Gomas** (Goma acacia, goma agar, goma Arábica, goma de mezquite, alginato de sodio)
- **Lípidos** (Cera, parafina, grasas y aceites)
- **Proteínas** (Gelatina, proteína de soya, proteína de suero de leche)

Los carbohidratos son ampliamente utilizados en el encapsulado de ingredientes alimentarios, son una buena alternativa ya que tienden a complementar a los sabores, existe una amplia diversidad en estos materiales de uso generalizado, tienen un bajo costo, y entre sus propiedades funcionales destacan su baja viscosidad, alta solubilidad deseable en un agente encapsulante. Los almidones son utilizados para retener compuestos volátiles, encapsular aromas o sustitutos de grasas, fungen como estabilizadores de la emulsión (Madene *et al.*, 2006).

Las maltodextrinas, se forman por hidrólisis parcial de harina de maíz con ácidos o enzimas. En la selección del material de la coraza, la maltodextrina es una opción viable ya que tiene una buena relación entre costo y eficacia, una baja viscosidad, sabor suave además de que se encuentra disponible en varios pesos moleculares, sus principales deficiencias radican en la dificultad que presenta para formar la emulsión y la baja retención de compuestos aromáticos, sin embargo proveen a los materiales un efecto de retardo en la oxidación (Fennema, 2000; Madene *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2005).

Las gomas y espesantes, son generalmente suaves e insípidos, pero pueden tener un efecto en el gusto y el sabor de los alimentos. La goma Arábiga es la más utilizada, por su alta solubilidad, baja viscosidad y sus características de emulsificación además de tener una buena retención de compuestos volátiles la hacen muy versátil para la mayoría de los procesos de encapsulación (Dickinson, 1992; Madene *et al.*, 2006; Gharsalloiu *et al.*, 2007).

Las proteínas de los alimentos tales como el caseinato de sodio, la proteína de suero de leche y aislados de proteína de soya se han utilizado ampliamente para encapsulamiento por su capacidad de auto-asociarse e interactuar con diferentes tipos de sustancias, las proteínas tienen excelentes propiedades funcionales como la solubilidad, viscosidad, capacidad de emulsificación y sus propiedades de formación de película, por lo cual son utilizadas en encapsulación (Madene *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2010 ).

Las proteínas de suero de leche se encuentran disponibles en el mercado como aislado de proteína de leche o proteína de suero de leche concentrada.

El aislado de proteína de soya ha demostrado ser una buena barrera contra la oxidación de aceites y proporciona una base efectiva para la microencapsulación de sustancias volátiles mediante secado por aspersión, pero su capacidad de encapsular es baja con respecto a la del caseinato de sodio (Madene *et al.*, 2006).

Se ha observado que los almidones modificados, químicamente tienen una excelente retención de volátiles, sin embargo baja protección contra la oxidación, deficientes propiedades emulsificantes y de retención de volátiles, contrario a carbohidratos como la maltodextrina que ofrecen una buena protección contra la oxidación del sabor. La goma Arábica, tiene excelentes propiedades emulsificantes, una buena retención de agentes volátiles pero la protección que ofrece a la oxidación al igual que su costo y disponibilidad son limitadas (Desai *et al.*, 2005).

#### 1.4.4. Técnicas de Encapsulamiento.

La encapsulación de ingredientes alimentarios se puede lograr por varios métodos, la selección del proceso de encapsulación, se determina por las propiedades físicas y químicas del material a encapsular (núcleo) y el material encapsulante, así como el uso previsto de los ingredientes alimentarios (Desai *et al.*, 2005). En la tabla 1.1 se describen las técnicas o métodos utilizados para la preparación de sistemas alimentarios microencapsulados:

**Tabla 1. 1.** Técnicas de Microencapsulación y sus principales etapas

No.	Técnica de Microencapsulación	Principales etapas en la Encapsulación
A	Secado por Aspersión	1.Preparación de la dispersión 2.Homogeneización de la dispersión 3.Atomización de la dispersión 4.Deshidratación de las partículas atomizadas

<b>B</b>	Enfriamiento por Aspersión	1.Preparación de la dispersión 2.Homogeneización de la dispersión 3.Atomización de la dispersión
<b>C</b>	Refrigeración por Aspersión	1.Preparación de la dispersión 2.Homogeneización de la dispersión 3.Atomización de la dispersión
<b>D</b>	Recubrimiento en Lecho Fluidizado	1.Preparación de la solución de recubrimiento 2.Fluidificación de las partículas fundamentales 3.Recubrimiento de las partículas fundamentales
<b>E</b>	Extrusión	1.Preparación de la solución de recubrimiento fundido 2.Dispersión de la base fundida 3.Enfriamiento o paso de la mezcla núcleo-recubrimiento a través del líquido deshidratante
<b>F</b>	Extrusión Centrífuga	1.Preparación de la solución base 2.Preparación de la solución de recubrimiento 3.Co-extrusión de solución núcleo y revestimiento a través de boquillas
<b>G</b>	Liofilización	1.Mezcla del núcleo con una solución de material revestimiento 2.Secado por congelamiento de la mezcla
<b>H</b>	Coacervación	1.Formación de tres fases químicas inmiscibles 2.Deposición del recubrimiento 3.Solidificación del recubrimiento
<b>I</b>	Separación Centrífuga de una Suspensión	1.Mezcla de la base en un material de recubrimiento 2.Vertir la mezcla sobre un disco giratorio 3.Secado



<b>J</b>	Co-cristalización	1.Preparación de una solución sobresaturada de sacarosa 2.Adición del núcleo en la solución sobresaturada 3.Emisión de calor sobre la solución hasta alcanzar la temperatura de cristalización de la solución de sacarosa
<b>K</b>	Atrapamiento en Liposomas	1.Microfluidización 2.Ultrasonificación 3.Reversión de la fase de evaporación
<b>L</b>	Complejos de Inclusión	1.Preparación de complejos por mezclado, molienda o secado por aspersión

Fuente: Desai *et al.* (2005)

### A. Secado por aspersión.

El secado por aspersión es la técnica más utilizada en microencapsulación en la industria alimentaria, y suele aplicarse en la preparación de ingredientes secos y la estabilización de alimentos y sabores.

Es un proceso económico y flexible, adaptable a diversos equipos ofreciendo partículas de buena calidad. Los costos de producción asociados a esta técnica son más bajos que aquellos asociados a otras técnicas. Una de las limitaciones del secado por aspersión es el número limitado de materiales encapsulantes con características deseables para la aplicación de esta técnica (Madene *et al.*, 2006; Ré, 2006).

Dado que casi todos los procesos de secado por aspersión en la industria alimentaria se llevan a cabo en formulaciones en fase acuosa, el material de la coraza o pared debe ser soluble en agua a un nivel aceptable (Desai *et al.*, 2005). En este método el material a encapsular se homogeneiza con el material encapsulante en diferentes proporciones. La

mezcla de alimentación se bombea un secador por aspersion para posteriormente ser atomizado con una boquilla o esprea. La alimentación líquida inicial de la boquilla puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. El agua es evaporada por medio de una corriente caliente, generalmente de aire o en algunas ocasiones un gas inerte como el nitrógeno, que entra en contacto con el material atomizado, las microcápsulas caen hasta el fondo y después son recolectadas (Desai *et al.*, 2005).

Al disminuir el contenido de agua, el secado por aspersion se utiliza para garantizar la estabilidad microbiológica de los productos, evitar la degradación biológica, reduce gastos de almacenamiento y transporte, y se obtiene un producto con características específicas, como la solubilidad instantánea (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

El secado por aspersion permite al tecnólogo de alimentos manipular el proceso de preparación para mejorar la calidad del producto final.

Algunos de las operaciones fundamentales dentro del secado por aspersion son: (Gharsallaoui *et al.*, 2007)

- **Atomización**

La atomización de líquidos en pequeñas gotas puede llevarse a cabo por la presión o energía centrífuga. Actualmente se utilizan atomizadores neumáticos, discos giratorios, boquillas de presión, boquillas de fluido y boquillas sónicas. El objetivo de esta etapa es la creación de un máximo intercambio de calor entre la superficie líquida y el aire seco con el fin de optimizar el calor y las transferencias de masa (Oakley *et al.*, 1997; Finney *et al.*, 2002).

La elección de la configuración del atomizador depende de la naturaleza, la viscosidad y las características deseadas del producto seco. Cuanto mayor sea la energía proporcionada más finas sean las gotas formadas. Sin embargo, el tamaño de las partículas aumenta cuando la viscosidad y la tensión superficial inicial del líquido son altas.

- **Líquido en contacto con corriente caliente**

Este contacto tiene lugar durante la atomización y con esto inicia la etapa de secado. Se distinguen dos tipos de contacto: co-corriente (flujo en paralelo) y contracorriente.

En el proceso co-corriente el líquido se atomiza en la misma dirección que el flujo de aire a través del aparato, la temperatura de entrada del aire caliente es normalmente de 150-220 °C, por lo que la evaporación sucede de forma instantánea, mientras que la temperatura de salida del producto se encuentra entre 50-80 °C, lo que limita la degradación térmica.

El proceso en contracorriente consiste en alimentar en direcciones opuestas el líquido pulverizado y la corriente de gas caliente, por lo que el producto seco se expone a altas temperaturas, lo que limita su aplicación en productos termo-sensibles. Sin embargo, entre sus principales ventajas se encuentra la reducción en términos de consumo de energía.

- **Evaporación de agua**

La transferencia de calor se lleva a cabo del aire a las gotas de líquido esto como resultado de la diferencia de temperatura, la transferencia de agua se lleva a cabo en dirección opuesta debido a la diferencia de presión de vapor (Gutiérrez *et al.*, 1998)

Se identifican 3 etapas principales:

- Contacto del gas con el líquido, la transferencia de calor eleva la temperatura de las gotas hasta un valor constante.
- La evaporación del agua se lleva a cabo a temperatura constante y a presión de vapor parcial. La velocidad de difusión de agua de la gota, es generalmente constante e igual a la tasa de evaporación superficial.
- Por último, cuando el contenido de agua alcanza un valor crítico, una costra seca se forma en la superficie de la gota, y la velocidad de secado disminuye rápidamente con la progresión del secado y se vuelve dependiente de la tasa de difusión de agua a través de la corteza.

Estas tres etapas tienen duraciones diferentes en función de la naturaleza del producto y de la temperatura de entrada del aire. De hecho si la temperatura del aire es elevada, se forma rápidamente la corteza seca alrededor de la gota debido a que la tasa de evaporación de agua es alta.

- **Separación Producto seco-Aire húmedo**

Esta separación se lleva a cabo por medio de un ciclón, el cual está situado al final de la cámara de aspersión, las partículas más densas se recuperan al final de la cámara de secado, mientras que las más finas pasan por el ciclón para ser separadas del aire húmedo. Adicional a los ciclones, los secadores por aspersión están equipados con dos filtros llamados “bag houses” utilizados para remover el polvo fino, depuradores químicos, residuos de polvo o algunos contaminantes volátiles.

El uso de secadores multi-etapas hizo posible incrementar el tiempo de residencia y disminuir la temperatura de secado, limitando así la desnaturalización térmica del producto y mejorando la eficacia térmica (kJ necesarios/kg de producto seco).

Los cambios de tamaño y morfología de la partícula en el secado por aspersión están relacionados con el contenido de humedad y la temperatura del secado. Debido a la complejidad de varias de las etapas del secado por aspersión el diseño tradicional está basado en la experiencia, pruebas a ensayo-error y trabajos a escala piloto.

Los principales factores que deben ser optimizados en el secado por aspersión son la temperatura de la alimentación, la temperatura de entrada y salida del aire del mismo. Cuando la temperatura de alimentación es alta, la viscosidad y el tamaño de la gota disminuyen, pero las altas temperaturas pueden causar la degradación o la volatilización de algunos componentes sensibles al calor.

Por otra parte, es importante el ajuste adecuado del caudal y la temperatura de entrada de aire en el proceso de secado por aspersión, la cual es directamente proporcional a la tasa de secado de las microcápsulas y el contenido final de agua.

Se ha referido que la temperatura en el proceso de secado esta relacionada con las características morfológicas, de funcionalidad de los productos (Fang *et al.*, 2012), así como las propiedades higrosópicas (Tonon *et al.*, 2011). La temperatura de entrada del aire se determina generalmente por dos factores: que la temperatura utilizada no dañe el producto o su funcionamiento y el costo comparativo de fuentes de calor.

Cuando la temperatura de entrada del aire es baja, la tasa de evaporación disminuye y repercute en la formación de microcápsulas con membranas de alta densidad, alto contenido de agua, fluidez baja y de fácil aglomeración. Sin embargo, una temperatura de entrada de aire alta provoca una excesiva evaporación teniendo como resultado grietas en la membrana que posteriormente influirán en la liberación prematura y degradación del ingrediente encapsulado.

La temperatura de salida del aire es muy difícil de determinar con antelación para un producto específico ya que depende de las características de secado del material. A diferencia de la temperatura de entrada del aire, la de salida no puede ser controlada directamente, ya que depende de la primera. Para la microencapsulación de ingredientes alimentarios se estima entre 50-80 °C.

La mayor pérdida de volátiles durante el secado por aspersión, tiene lugar durante las primeras etapas del secado, antes de la formación de una costra seca en la superficie de las partículas.

## **1.5. Evaluación del Suplemento Alimenticio.**

### **1.5.1. Evaluación Físicoquímica.**

Una vez obtenido el sistema microencapsulado en el cual se encuentra el ingrediente activo del suplemento alimenticio, es necesaria la evaluación de sus propiedades

fisicoquímicas para determinar la funcionalidad del producto final. Las características principales a evaluar en un suplemento alimenticio son las siguientes: (*Codex Alimentarius, Sección 13.5-13.6 Suplementos dietéticos*)

- **Descripción de Propiedades Organolépticas:** Se hace una completa descripción cualitativa de la forma farmacéutica, que incluya aspecto, dimensiones, forma, color, olor u otros.
- **Solubilidad en Agua:** La solubilidad según la Farmacopea de los Estados Unidos de América se indica mediante los términos descriptivos de la Tabla 1.2. El término miscible utilizado en la Farmacopea se refiere a una sustancia que produce una mezcla homogénea al mezclarse en cualquier proporción con el disolvente designado, utilizando para el caso de suplementos alimenticios agua destilada.

**Tabla 1.2.** Referencias de partes de soluto por partes de disolvente en la determinación de solubilidad

Termino Descriptivo	Partes de Disolvente Requeridas para 1 parte de soluto
Muy soluble	Menos de 1
Fácilmente soluble	de 1 a 10
Soluble	de 10 a 30
Moderadamente soluble	de 30 a 100
Poco soluble	de 100 a 1000
Muy poco soluble	de 1000 a 10 000
Prácticamente Insoluble	10 000 o más
Insoluble	

*Fuente:* Farmacopea de los Estados Unidos de América, Descripción y Solubilidad, Tablas de Referencia, pp 912.

Un material soluble cuando se solubiliza, puede mostrar trazas de impurezas físicas, tales como fragmentos diminutos de papel filtro, fibras y otras partículas, a menos que sean limitados o excluidos por pruebas definidas u otras especificaciones.

- **Desintegración:** El objetivo de esta prueba es determinar el cumplimiento con los límites de desintegración que se establecen para los suplementos dietéticos, incluidas las formas farmacéuticas de productos botánicos. Esta prueba se aplica a

las tabletas sin cubierta y con cubierta simple y a las cápsulas de gelatina dura y gelatina blanda. Aplicar el procedimiento a 6 unidades de dosificación del suplemento alimenticio.

Se define como desintegración completa, al estado en el cual los residuos de la unidad con excepción de los fragmentos del recubrimiento insoluble o, en el caso de las cápsulas la cubierta insoluble, que permanezcan en el tamiz del aparato de prueba, constituyen una masa blanda sin un núcleo firme al tacto.

El aparato consta de un montaje de canastilla-gradilla, un vaso de precipitado bajo de 1000 ml, con una altura de 138 mm y con un diámetro interno de 97 mm para el líquido de inmersión, una disposición termostática para calentar el líquido a 37° C y un dispositivo para elevar y sumergir la canastilla en el líquido de inmersión para esta prueba se utiliza Fluido Gástrico Simulado SR.

El volumen del líquido del recipiente (900 ml) es tal que el punto más alto del recorrido ascendente, la malla del alambre permanece al menos 15 mm por debajo de la superficie del líquido y desciende no menos de 25 mm desde el fondo del recipiente en el recorrido descendente. En ningún momento debe quedar sumergida la parte superior del montaje de canastilla-gradilla.

El tiempo requerido para el recorrido ascendente es igual al tiempo del recorrido descendente, y el cambio de sentido se produce en una transición suave y no con un movimiento abrupto. El montaje de canastilla-gradilla se mueve verticalmente a lo largo de su eje. No hay un movimiento horizontal significativo ni un movimiento del eje que no sea vertical.

- **Disolución:** El objetivo de esta prueba es determinar el cumplimiento con los requisitos de disolución establecidos para cápsulas. Esta disolución no específica, tiene como propósito diagnosticar problemas tecnológicos conocidos que podrían

surgir debido a los recubrimientos, lubricantes, desintegrantes y otras sustancias inherentes al proceso de fabricación.

Además, esta medición de disolución permite una evaluación del grado de descomposición del extracto en compuestos poliméricos u otros compuestos insolubles que se pudieran producir por secado excesivo u otras manipulaciones involucradas en la fabricación del suplemento alimenticio.

La presunción operativa inherente a este procedimiento es que si se demuestra que los compuestos indicadores o marcadores, o el extracto, se han disuelto dentro del plazo estipulado y bajo las condiciones especificadas, la forma farmacéutica no se verá afectada por ninguno de los problemas relativos a la formulación o fabricación mencionados anteriormente.

El aparato a utilizar para llevar a cabo esta prueba, consiste de: un vaso, con o sin tapa, de vidrio u otro material inerte y transparente; un motor, un eje propulsor metálico y una canastilla cilíndrica (ver figura 1.2). El vaso está parcialmente sumergido en un baño de agua adecuado. Durante el transcurso de la prueba, el baño de agua mantiene la temperatura en interior del vaso a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y garantizan que el fluido del baño se mantenga en movimiento suave y constante. Cada uno de los vasos deberá llenarse con 900 ml de la solución denominada como Medio de Disolución (HCl 0.1 N). Ninguna parte del equipo, ni el entorno en el cual está colocado, aumenta significativamente el movimiento, agitación o vibración, por encima de los producidos por el elemento de agitación que gira con suavidad. Es preferible emplear un aparato que permita observar la muestra y el elemento de agitación durante la prueba.

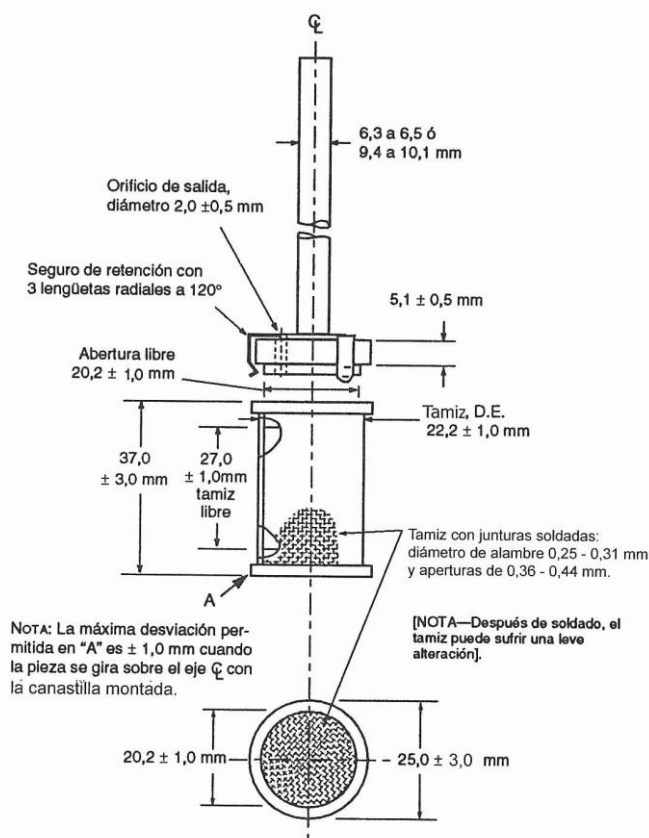
El vaso es cilíndrico y de fondo semiesférico con las siguientes dimensiones y capacidades: para 1 L de capacidad nominal: altura de 160 mm y diámetro interno entre 98 mm. Las paredes del vaso cilíndrico tienen un reborde en el extremo superior.



El eje propulsor está colocado de forma tal que su eje central guarde una distancia máxima de 2 mm con respecto a cualquier punto del eje vertical del vaso y rote suavemente sin fluctuaciones que pudieran afectar los resultados.

Se emplea un dispositivo para regular la velocidad con el objeto de seleccionar y mantener la velocidad de rotación del eje impulsor a 100 rpm.

Los componentes del eje y de la canastilla del elemento de agitación son de acero inoxidable tipo 316, según las especificaciones de la figura 1.2.



**Figura 1.2.** Diagrama de elemento de agitación de canastilla para prueba de disolución.

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos de América, Disolución, Pruebas Físicas, pp 804-805.

La distancia entre el fondo interno del vaso y el fondo de la canastilla se mantiene a 25 +/- 2 mm durante la prueba.

Para la interpretación de los resultados de esta prueba los requisitos se cumplen si las cantidades disueltas del suplemento alimenticio, se ajustan a la tabla de aceptación (Tabla 1.3). La cantidad Q, es la cantidad disuelta de suplemento alimenticio expresada como un porcentaje del contenido declarado.

**Tabla 1.3.** Tabla de Aceptación para una Muestra Combinada en Pruebas de disolución.

Tabla de Aceptación para una Muestra Combinada		
Etapa	Cantidad Analizada	Criterios de Aceptación
S1	6	La cantidad disuelta promedio no es menor que Q+10%
S2	6	La cantidad disuelta promedio (S1+S2) es igual o mayor que Q+5%
S3	12	La cantidad disuelta promedio (S1+S2+S3) es igual o mayor que Q

*Fuente:* Farmacopea de los Estados Unidos de América, Desintegración y Disolución de Suplementos Dietéticos, pp 804-805.

- **Identificación:** el ensayo de identificación debe establecer la identidad cualitativa de los antioxidantes presentes en el suplemento alimenticio y en el extracto de frijol negro, determinando si existe o no correspondencia entre ambos, hay muchos disolventes apropiados para llevar a cabo la identificación espectrofotométrica incluyendo agua, alcoholes, cloroformo, hidrocarburos de cadena corta, éteres, y soluciones diluidas de ácidos y álcalis fuertes. Las zonas para identificación de compuestos antioxidantes según se declaran en la tabla 1.4:

**Tabla 1.4.** Zonas de identificación de compuestos antioxidantes.

Estructura del Compuesto Fenólico	Intervalo UV	Intervalo VISIBLE
Clorofilas	-	415-450 nm (principal) 545-650 nm
Citocromos	Absorción UV intensa	415-440 nm (picos menores) 540-560 nm
Antocianinas, Antocianidinas	270-280 nm	465-560 nm (pico menor)
Betacianinas	250-270 nm	530-554 nm
Carotenoides	-	400-500 nm (un pico mayor con 2 picos menores)
Antraquinonas	220-290 nm (3-4 picos intensos)	420-460 nm (bandas menores)
Chalconas	230-270 nm (baja intensidad)	340-390 nm
Auronas	230-270 nm (baja intensidad)	380-430 nm
Flavonoides	230-270 nm	365-390 nm

- **Contenido de Humedad:** Esta prueba se realiza con la finalidad de determinar la cantidad de materia volátil de cualquier tipo que se elimina en las condiciones especificadas. Se establece como límite máximo el 12 % para fármacos secos.

### 1.6. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias, con diferentes estructuras, propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8000 compuestos distintos. Se encuentran ampliamente distribuidos de forma natural principalmente en las frutas y vegetales, están caracterizados por tener un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos, los cuales pueden adquirir formas de flavonoides y glicósidos dependiendo del número y tipo de sustituciones que tengan en dicho anillo (Rice-Evans *et al.*, 1997). Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos (Gutiérrez *et al.*, 2008; Fang y Bhandari, 2010). El grupo de los compuestos fenólicos incluye a los flavonoides y sus subgrupos las antocianidinas, las catequinas y las isoflavonas (Chasquibol *et al.*, 2003).

Los flavonoides, son glicósidos formados por una aglicona, que en muchos casos deriva de la 2-fenilbenzopirona; entre las principales agliconas se encuentra el flavonol y la flavona,

además de la isoflavona, flavanona, el flavonol, las chalconas y los biflavonilos. Los azúcares sustituyentes más importantes son la glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa y xilosa, y en ocasiones también se encuentran la apiosa y rutinosa; éstos se unen a la aglicona por medio de los carbonos 7, 5 y 4', principalmente (Rice-Evans *et al.*, 1996; Rice-Evans *et al.*, 1997).

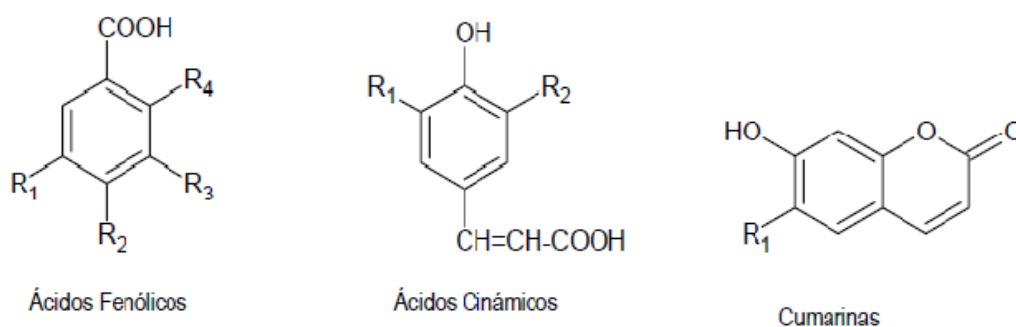
Los compuestos fenólicos han sido sujeto de una extensiva investigación como agentes preventivos de enfermedades. Los compuestos fenólicos protegen a las plantas contra daños oxidativos y llevan a cambio la misma función en el organismo humano. Las coloraciones azul, azul-rojo y violeta característicos de ciertas variedades de cerezas y uvas y el color púrpura de la berenjena se deben al contenido fenólico de estos vegetales.

Los compuestos fenólicos son antioxidantes biológicos que protegen las células contra el daño oxidativo, pues inhibe la acción de los radicales libres y especies reactivas de oxígeno, quelantes catalizadores metálicos, inhiben oxidasas que conducen a las enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo. (Heimler *et al.*, 2005; Cardador-Martínez *et al.*, 2002).

Es ampliamente reconocido que la actividad antioxidante de algunos alimentos está relacionada con el alto contenido de compuestos fenólicos; gran variedad de éstos son derivados de plantas, incluyendo polifenoles simples, fenilpropanoides, derivados del ácido benzoico, flavonoides, taninos, lignanos y ligninos (Shahidi y Naczk, 2004). Harborne y Simmonds (1964) clasificaron los compuestos fenólicos en quince grandes grupos, sin embargo por conveniencia se agruparon en dos principales (I y II) y actualmente se siguen reconociendo de esta forma (Bernal *et al.*, 2011):

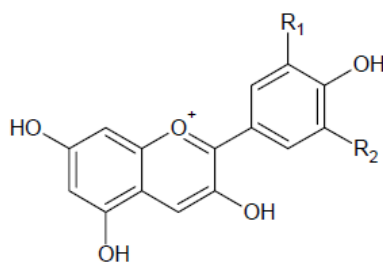
**Grupo I:** Los ácidos fenólicos y cumarinas (Figura 1.3A), son compuestos que tienen estructuras C6- C1 y C6-C3, dentro de los cuales podemos encontrar ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, escopoletina, etc. Ambos tipos de ácidos fenólicos también se pueden encontrar de forma conjugada o esterificada.

Los ácidos benzoicos encontrados de manera extensa en la naturaleza son, ácido vanílico, ácido sirínico, hidroxibenzoico y ácido gálico el cual es encontrado como un constituyente de taninos o como dímero del ácido elágico. Por otro lado los ácidos cinámicos encontrados en la naturaleza son el ácido cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido sinápico.



**Figura 1.3A.** Estructura química general de diversos compuestos fenólicos.

**Grupo II:** Está formado por flavonoides y antocianinas los cuales son compuestos con estructura C6-C3-C6, dentro de los cuales podemos encontrar antocianidinas, flavonoles, flavonas, chalconas, etc.



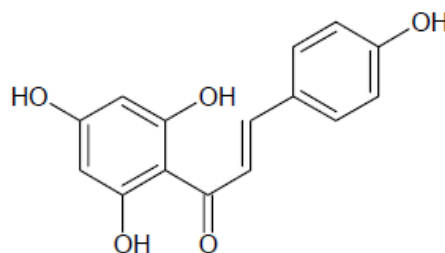
**Figura 1.3B.** Estructura química general de antocianinas.

Estos compuestos de forma general tienen una gran diversidad y presentan una amplia actividad biológica, que les confiere propiedades multifuncionales que van desde agentes antimicrobianos, antioxidantes naturales hasta inhibidores enzimáticos dependiendo de su estructura, grado de polimerización, diferencias estereoisoméricas, concentraciones, etc.

Por otra parte la clasificación de los flavonoides se realiza tomando varios aspectos en consideración como el tipo de sustitución que tenga en su anillo C, el estado de oxidación o su forma heterocíclica y de la posición que tenga el anillo B. En este subgrupo se encuentran las flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonoides y antocianinas.

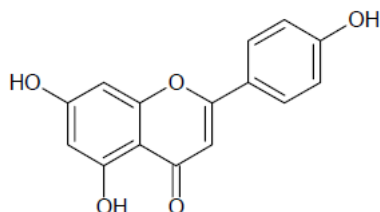
A continuación se mencionan algunos datos relevantes de cada uno de estos subgrupos y sus estructuras químicas generales:

- Chalconas: Son isómeros de las flavanonas por apertura del núcleo central. Dentro del grupo cabe mencionar el glucósido de la floretina (florizina), ampliamente distribuido en la corteza de los frutos de varias rosáceas (Badui, 1997).



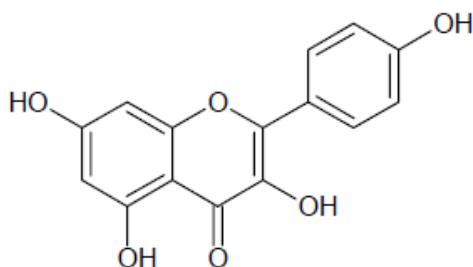
**Figura 1.3C.** Estructura química general de las chalconas.

- Flavonas: Son compuestos responsables de los colores amarillos de las flores de muchas plantas. Este tipo de compuestos producen colores más permanentes, pero algo más pálidos de aquellos que son producidos por los flavonoles. Dentro de las flavonas podemos citar la apigenina y luteolina.



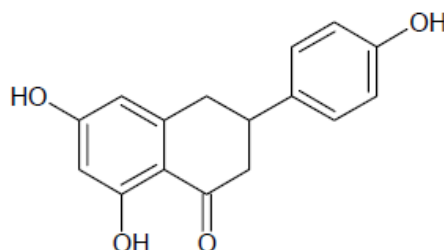
**Figura 1.3D.** Estructura química general de las flavonas.

- Flavonoles: Son compuestos responsables de dar una coloración amarilla en las hojas de muchas plantas, tienden a degradarse bajo la acción de luz intensa. Los más comunes son la quercetina, mirecetina, fisetina. Dada su capacidad de capturar radicales libres y de crear complejos con iones metálicos, tienen una actividad antioxidante muy alta; sin embargo, el hecho de que sean poco solubles en agua, los hace poco adecuados para aplicaciones comerciales. Presentan una gran similitud con la estructura de las antocianidinas y antocianinas, la diferencia radica en que los flavonoides tienen un grupo cetona en el carbono 4 en el anillo C.



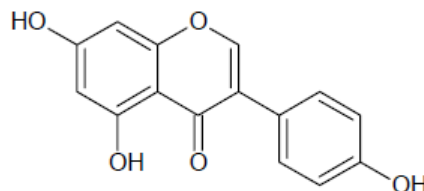
**Figura 1.3E.** Estructura química general de los flavonoles.

- Flavanona: Las flavanonas de origen natural presentan casi siempre la configuración 2S, que dispone el anillo B ecuatorial (Figura 1.3F). Pueden presentarse como O- y C-glicósidos (hesperidina y aervanona), también pueden tener O- y C-metilaciones o alquilaciones superiores (prenilaciones). Las agliconas más representativas son hesperetina y naringenina.



**Figura 1.3F.** Estructura química general de las flavanonas.

- Isoflavonoides: Son compuestos distribuidos en pocas familias (alrededor de 20), principalmente en las leguminosas (Figura 1.3G). Estructuralmente se les puede dividir en varias clases: isoflavonas, isoflavonoles, etc. Por su parte, las isoflavonas tienen actividad estrogénica, es decir, imitación de hormonas femeninas, sobre todo la genisteína, la daidzeína y la gliciteína, que se encuentran como glicósidos en la soya, alfalfa, etc.



**Figura 1.3G.** Estructura química general de los isoflavonoides.

- Antocianinas: Las antocianinas como parte del grupo de los compuestos fenólicos poseen la característica estructura C6-C3-C6 en su esqueleto. Son pigmentos hidrosolubles, se encuentran primordialmente glucosidados en la naturaleza; están constituidos por una molécula de antocianidina, que es una aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glicosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio que consta de dos grupos aromáticos, un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); por su posición trivalente del oxígeno, el flavilio normalmente funciona como un catión

Los azúcares que comúnmente se encuentran asociados son glucosa y ramnosa, seguidos de galactosa, xilosa, arabinosa y, ocasionalmente, gentiobiosa, rutinosa, soforosa; todos ellos se unen a la antocianidina principalmente por medio del hidroxilo de la posición 3, y en segundo término, en la posición 5 ó 7 (Badui, 1997).

De las 20 antocianidinas que actualmente se conocen, las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 450 antocianinas que abundan en la naturaleza. En el frijol se han encontrado diferentes concentraciones de antocianinas



tanto en el grano, como en la testa (Salinas-Moreno *et al.*, 2005). Las legumbres son una significativa fuente de macronutrientes y micronutrientes y han desempeñado un papel importante en la dieta tradicional de gran cantidad de regiones a nivel mundial. Además de su valor nutricional, han sido ampliamente reconocidos como alimentos funcionales que promueven la salud (Geil y Anderson, 1994).

Los compuestos fenólicos se encuentran en mayor concentración en la testa del frijol, es por ello que en este trabajo se obtuvieron extractos acuosos de la testa de frijol negro, los cuales se microencapsularon mediante secado por aspersion y se adicionaron en la elaboración de un suplemento dietético.

### **1.6.1. Actividad antioxidante**

Actualmente se ha dado gran importancia al estudio de los compuestos antioxidantes provenientes de fuentes naturales como frutos, semillas y vegetales, debido a los efectos beneficiosos que proveen a la salud como resultado de la ingesta diaria de estos compuestos. En la naturaleza existe una gran variedad de compuestos fitoquímicos con importante capacidad antioxidante, entre los cuales se encuentran los compuestos fenólicos.

La mayoría de las plantas, contienen compuestos fenólicos los cuales están presentes en cantidades diferentes dependiendo de la planta y del grupo de compuesto fenólico estudiado, diferenciándose estos contenidos de acuerdo a la parte vegetal utilizada.

En legumbres y cereales los principales compuestos fenólicos son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos. Las legumbres con un mayor contenido de compuestos polifenólicos son las de color oscuro entre las que destacan el frijol rojo y el frijol negro (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Los compuestos fenólicos constituyen amplio grupo de sustancias químicas presentes en el reino vegetal, son considerados como metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad. (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Bernal *et al.*, 2011). A

menudo se les relaciona con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados, además de que contribuyen a la pigmentación de los mismos.

En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Así, muchas de las propiedades beneficiosas descritas en los alimentos de origen vegetal, asociadas principalmente a la actividad antioxidante, están relacionadas con la presencia y con el contenido de compuestos fenólicos (Martinez-Valverde *et al.*, 2000; Kaur y Kapoor, 2002; Itagi y Singh, 2012).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, tiene interés desde el punto de vista tecnológico. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales ó nutraceuticos (Martinez-Valverde *et al.*, 2000; Bernal *et al.*, 2011).

La exposición de pigmentos vegetales como los compuestos fenólicos a diversas condiciones como, temperatura, actividad de agua y pH dan lugar a su degradación, cuyo estudio permitiría establecer un parámetro de las propiedades funcionales de los suplementos alimenticios, algunos parámetros que se pueden obtener a partir de esta cuantificación son: el tiempo de vida media, la constante de degradación y el orden de la reacción de la cinética degradativa (Tonon *et al.*, 2010; Pavón- García *et al.*, 2011 ).

El comportamiento de la degradación de la actividad antioxidante de compuestos fenólicos permitiría establecer si es necesaria la aplicación de técnicas de preservación para aumentar el tiempo de vida útil del producto (Moreno *et al.*, 2002).

# JUSTIFICACIÓN

## 2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente el consumo de suplementos alimenticios ha cobrado importancia en la complementación de la alimentación, la ingesta de diversos tipos nutrientes cada vez se vuelve más deficiente debido a los procesos a los que son sometidos los alimentos que degradan la naturaleza de los mismos, y esto puede dificultar o inhibir su absorción en el intestino.

Por lo anterior es importante la elaboración de productos en los cuales se garantice que los nutrientes que contienen mantengan su constitución química para poder ser aprovechados por el organismo.

Al ser los nutrimentos sensibles a diversos factores ambientales es importante la aplicación de técnicas que los protejan durante el proceso de elaboración. Una de las técnicas más utilizadas en la industria alimentaria es la microencapsulación que consiste en recubrir un componente bioactivo con un material encapsulante que retarde la degradación de sus componentes lábiles, en específico, en el frijol negro, la cantidad de antioxidantes presentes en la testa del frijol.

Este trabajo tuvo como propósito la formulación y evaluación de un suplemento alimenticio conformado por antioxidantes naturales provenientes de la testa de frijol negro, estos antioxidantes fueron protegidos mediante la técnica de microencapsulación por secado por aspersión. Además de los antioxidantes, el suplemento alimenticio contiene vitaminas, minerales y oligoelementos. A este suplemento se le evaluó la funcionalidad de las características del suplemento alimenticio una vez que se desea comercializarlo.

# **OBJETIVOS**

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Evaluar la actividad antioxidante de un suplemento alimenticio con de antioxidantes naturales de frijol negro y enriquecido con vitaminas y minerales.

#### **3.2 Objetivos Particulares**

- Obtener un extracto acuoso que contenga los antioxidantes de la testa de frijol negro.
- Obtener microcápsulas con antioxidantes naturales del extracto acuoso de la testa de frijol negro mediante secado por aspersión.
- Determinar propiedades fisicoquímicas de las microcápsulas.
- Determinar las cinéticas de degradación de la actividad antioxidante del extracto acuoso de la testa de frijol negro microencapsulado.
- Formular el suplemento alimenticio conteniendo antioxidantes naturales del frijol negro microencapsulado y enriquecido con vitaminas, minerales y oligoelementos.
- Encapsular el suplemento alimenticio para la elaboración de la forma farmacéutica en la que se dispondrá el suplemento alimenticio.
- Evaluar y analizar las propiedades características del suplemento alimenticio.

# **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

#### **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Es posible mantener el contenido de compuestos antioxidantes del extracto acuoso de la testa de frijol negro mediante su microencapsulación por la técnica de secado por aspersion?



# **METODOLOGÍA**

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Materiales

Se utilizó frijol negro mexicano que fue adquirido de un mercado regional del Estado de México. En la formulación del suplemento alimenticio se emplearon distintos componentes: Harina de soya, carbonato de calcio y estereato de magnesio adquiridos en Botica La Moderna (Toluca, Estado de México); vitamina E, vitamina C, vitamina B6, vitamina B1, vitamina A, ácido fólico, selenio y vitamina B12 todos adquiridos de la compañía PROQAVIF S.A. de C.V. (Ciudad de México, México).

Como agentes encapsulantes se utilizaron goma de mezquite (*Prosopis laevigata*) (GM), la cual fue recolectada del Estado de San Luis Potosí, en forma de lágrimas y se purificó de acuerdo a Vernon-Carter *et al.* (2000) y goma Arábica (GA) que fue adquirida en Industria Ragar, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México).

Todos los reactivos y sales empleadas fueron grado analítico. Para todas las pruebas cuya realización requirió del uso de agua destilada, esta fue proveniente de dos fuentes según el lugar donde se llevaron a cabo las pruebas, se empleó agua destilada del Laboratorio de Desarrollo de Productos Nuevos de Arabela S.A. de C.V. (Filtro Millipore Mod. Mill-DI 9V CPD1000L1, Filtro Lot. No. F0PA84534) y de la Planta de Ingeniería Química de la Unidad El Cerrillo, UAEM.

### 5.2. Formulación de Soluciones conteniendo el extracto de Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris* L.)

Se trituró una cantidad suficiente de frijol negro de manera que se pudiese quitar manualmente la testa del frijol; posteriormente se pesó 1 kg de testa de frijol negro y se adicionó en 2L de agua destilada a temperatura ambiente ( $\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante 15 horas para obtener el extracto acuoso de frijol, se decantaron los sólidos del extracto acuoso. Una

vez obtenido el extracto acuoso, se tomó 1 L de extracto y se colocó en una liofilizadora (LABCONCO modelo free zone 12, Kansas City, EUA) durante 24 h a una temperatura de  $-50^{\circ}\text{C}$  para conocer el contenido de sólidos totales en el extracto, el cual fue de 5 % w/w. Posteriormente, se prepararon 2 soluciones coloidales con el extracto acuoso de frijol y con GA o GM como agentes encapsulantes teniendo una concentración final de 15% sólidos totales.

### **5.3. Formación de Microcápsulas**

Se alimentaron las soluciones coloidales con un flujo de 40 mL/min por medio de un dosificador a un secador por aspersion Nichols/Niro a nivel planta piloto (Turbo Spray PLA, Nueva York, EUA) a una temperatura de entrada del aire de  $135 \pm 5^{\circ}\text{C}$  y una temperatura de salida del aire de  $85 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , inyectando aire comprimido a 4 bar (Pavón-García *et al.*, 2011).

### **5.4. Distribución del tamaño promedio de partícula de las microcápsulas**

La distribución del tamaño promedio de partícula de las microcápsulas ( $d_{4,3}$ ) se determinaron con un Analizador de Tamaño de Partícula y Gota Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, Reino Unido).

### **5.5. Morfología de las microcápsulas**

Las microcápsulas fueron pegadas a un portamuestras de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) usando una cinta adhesiva por ambos lados (Ted Pella, Redding, California, E.U.A), las muestras fueron subsecuentemente cubiertas con oro (Pérez-Alonso *et al.*, 2009) en una Ionizadora (marca Desk II modelo Denton Vacuum, EUA), a 100 millitorrs y 15 mA. La morfología de las microcápsulas fue observada con un microscopio electrónico de alto vacío (marca Jeol modelo JSM-5800LV, Japón) a 25 kV.

## **5.6. Acondicionamiento de las microcápsulas**

Al obtener las microcápsulas, estas se acondicionaron a 25 °C y dos actividades de agua (0.115 y 0.536) y, a 35 °C y dos actividades de agua (0.108 y 0.515) (Sánchez-Sáenz *et al.*, 2011). Para lograr lo anterior, se colocaron 50 g de cada tipo de microcápsulas en cuatro desecadores, los cuales contenían soluciones salinas saturadas de LiCl y MgNO<sub>3</sub> y se introdujeron dentro de dos estufas de convección forzada (marca Riossa, México, D.F.) y se mantuvieron durante 25 días a fin de alcanzar los valores de actividad acuosa mencionados anteriormente, es decir, hasta alcanzar el equilibrio (Pérez-Alonso *et al.*, 2006). La actividad de agua de las microcápsulas se midió con un medidor de actividad de agua Aqualab con compensador de temperatura (modelo series 3 TE, Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EUA).

## **5.7. Estabilidad de la capacidad antioxidante del extracto de frijol negro contenido en las microcápsulas**

Una vez acondicionadas las microcápsulas, se tomaron 0.2 g de cada tipo de microcápsulas y se adicionaron en 2 mL de agua destilada agitando por 1 min; posteriormente se tomó una alícuota de 20 µL y se adicionó en 1 mL de metanol grado reactivo centrifugando a 3000 rpm durante 5 min. Por otro lado, se preparó una solución DPPH 0.1 mM y se tomó una alícuota de 250 µL que se adicionó a 750 µL del extracto metanólico conteniendo los antioxidantes del frijol microencapsulado durante 30 min y finalmente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Genesys 10UV, Thermo Scientific, MA, EUA) a una longitud de onda de 517 nm.

Los datos de absorbancia se extrapolaron a una curva de calibración con concentraciones conocidas del reactivo de Trolox. Estas mediciones se llevaron a cabo por espacio de 8 semanas para determinar la cinética de la capacidad antioxidante del extracto de frijol microencapsulado, estimando el orden de reacción, constante de velocidad de reacción y tiempo de vida media de acuerdo a la metodología descrita por Tonon *et al.* (2010).

### 5.8. Formulación del suplemento alimenticio

Se formuló el suplemento alimenticio según los siguientes porcentajes, y bajo los criterios de concentraciones máximas permitidas para vitaminas y minerales de la normatividad mexicana vigente, posteriormente se colocaron 500 mg en capsulas de gelatina transparentes.

**Tabla 5.1.** Formulación del suplemento alimenticio de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*)

Ingrediente	g por cada 100 g de s.s.
Harina de Soya ( <i>Glycine soja</i> )	32
Carbonato de Calcio	31
Sulfato de Magnesio	15.6277
Extracto de Frijol Negro ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	10
Vitamina C ( <i>Ácido ascórbico</i> )	5
Vitamina E ( <i>Acetato de tocoferol</i> )	4.167
Vitamina B1 ( <i>Tiamina</i> )	1.25
Vitamina B6 ( <i>Piridoxina</i> )	0.873
Vitamina A ( <i>Palmitato de retinol</i> )	0.0398
Ácido Fólico	0.033
Selenio	0.0083
Vitamina B12 ( <i>Cianocobalamina</i> )	0.001

## EVALUACIÓN DEL SUPLEMENTO ALIMENTICIO

### 5.9. Propiedades organolépticas del suplemento alimenticio

En esta prueba se realizó la evaluación de características como color, olor y sabor, únicamente se determinó si éstos son agradables para el evaluador, se tomaron 10 personas de diferente sexo y edad a las que se les pidió evaluar cápsulas con suplemento dietético de frijol, así como el polvo antes de encapsularse, para determinar esto se solicitó la ingesta tanto de las cápsulas como del polvo, la percepción de aroma mediante olfato al momento de consumirlas, y la observación de las muestras previo a la ingesta para determinar si el color y el olor tienen alguna influencia sobre el consumidor del producto.

Adicionalmente el color de las microcápsulas se evaluó mediante un colorímetro Hunter Lab MiniScan, modelo MS-4,500 L. Formato 2. ¼ P65/10°, donde se determinaron los parámetros L\*, a\* y b\*.

### **5.10. Solubilidad en agua del suplemento alimenticio**

Para la realización de esta prueba se inició con 10 mg de suplemento alimenticio en 10 ml de agua destilada agitando manualmente a temperatura ambiente durante 1 minuto, se agregaron 10 ml más de disolvente agitando durante un minuto más con esto se dedujo que el material es fácilmente soluble en agua mediante los términos descriptivos de la Tabla 5.1 del apartado de antecedentes de este trabajo.

### **5.11. Determinación del contenido de humedad**

Para llevar a cabo esta prueba se pesó un vidrio de reloj seco y posteriormente 2 g de suplemento alimenticio, en una Balanza Analítica (TE124S, Sartorius, EUA) extendiéndolo uniformemente en la superficie del vidrio, posteriormente se colocó en una mufla Memmert (modelo UL30, Alemania) a 105 °C durante dos horas, terminado este proceso se colocó en un desecador de vidrio durante 30 minutos hasta que la muestra alcanzó temperatura ambiente para posteriormente pesarla y determinar el contenido de humedad expresado en porcentaje, según la ecuación 5.1

$$H = \frac{W_{inicial} - W_{final}}{W_{final}} \quad (\text{Ec. 5.1})$$

Donde  $H$  es el contenido de humedad del suplemento alimenticio después de ser dispuesto en la forma farmacéutica deseada [kg H<sub>2</sub>O/kg s.s.],  $W_{inicial}$  y  $W_{final}$  son los pesos iniciales y finales del contenido de la unidad de dosificación respectivamente [kg].

El resultado obtenido no debe ser mayor que 12% para el caso de productos secos.

### **5.12. Desintegración**

La prueba de desintegración se llevó a cabo en un desintegrador (TEMSA, Mod. JTR-01, México), se colocaron 6 capsulas de 500 mg en cada uno de los vasos de los que consta el aparato, los cuales fueron previamente acondicionados con 900 ml de Fluido Gástrico Simulado SR, el cual se preparó disolviendo 2 g de cloruro de sodio marca Fermont y 3.2 g de Pepsina purificada marca HYCEL, obtenida de mucosa gástrica porcina, con una actividad de 800 a 2500 unidades por mg de proteína, en 7,0 ml de ácido clorhídrico marca Fermont y agua destilada suficiente para aforar a un litro. Esta solución reactiva tiene un pH aproximado de 1.2. La prueba se llevo a cabo a 37° C, y bajo el movimiento predeterminado para este aparato según lo descrito en la Farmacopea de los Estados Unidos de América.

### **5.13. Disolución**

La prueba se llevó a cabo en un disolutor (TEMSA, Mod. JTR, México), construido y descrito en el aparato referenciado en la figura 1.2 de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Se colocaron 6 cápsulas previamente pesadas una en cada canastilla del disolutor, a la par se llenaron los vasos del equipo con una solución de ácido clorhídrico 0.1 N, la cual se preparó *in situ* disolviendo 8.3 ml de ácido clorhídrico grado reactivo marca Fermont, en agua destilada suficiente para aforar a un litro, el pH de esta solución fue de 1.2, este medio de disolución se utilizó para la preparación de la solución estándar de la curva de calibración y para la dilución, posteriormente se sumergieron las canastillas en la solución a 37°C y se pusieron en agitación a 100 rpm.

Se realizó un muestro cada 5 min durante 1 h de 5 ml de la solución de medio de disolución con suplemento alimenticio para posteriormente realizar mediciones de absorbancia mediante espectrofotometría en un espectrofotómetro (UV/VIS GENESYS 10 UV/VIS Thermo Scientific, Madison, WA, EUA), a una longitud de onda de 222 nm, en velocidad media.

Para la elaboración del perfil de disolución del suplemento alimenticio fue necesaria la elaboración de una curva de calibración la cual fue generada de la siguiente forma, se pesaron 6 muestras de 0.01 g, 0.02 g, 0.03 g, 0.04 g, 0.05 g y 0.06 g respectivamente, las cuales se colocaron en matraces volumétricos de 100 ml los cuales se aforaron con solución de HCl 0.1 N, una vez que estas soluciones fueron preparadas se leyeron sus absorbancias a la longitud de onda 222 nm en un espectrofotómetro (UV/VIS GENESYS 10 UV/VIS Thermo Scientific, Madison, WA, EUA), una vez obtenidos los datos de absorbancia se hizo una regresión lineal obteniendo una ecuación:

$$y = mx + bH \quad (\text{Ec. 5.2})$$

Donde  $y$  es la absorbancia medida a 222 nm de cada una de las alícuotas tomadas durante el experimento, y  $x$  es la cantidad en gramos de suplemento alimenticio disuelto durante la prueba.

#### **5.14. Prueba de identificación cualitativa de compuestos fenólicos en el suplemento alimenticio**

Esta prueba se llevó a cabo en un espectrofotómetro (UV/VIS GENESYS 10 UV/VIS Thermo Scientific, Madison, WA, EUA), pesando una muestra de 1 mg de suplemento dietético la cual se disolvió en 25 ml etanol grado reactivo de la marca Fermont para la realización de la lectura de absorbancias. De manera análoga se pesaron 0.1 mg de extracto de frijol negro y se disolvieron en 25 ml de etanol grado reactivo de la marca Fermont, realizando otra lectura de absorbancias bajo las mismas condiciones de la prueba con suplemento alimenticio. Se compararon los picos obtenidos en ambas lecturas y se determino que existe correspondencia en ambos casos presentando picos en de absorción principal en la zona de los ácidos fenólicos que corresponde de los 200-300 nm.



# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1. Propiedades y Características de las microcápsulas**

#### **6.1.1. Tamaño de partícula de las microcápsulas**

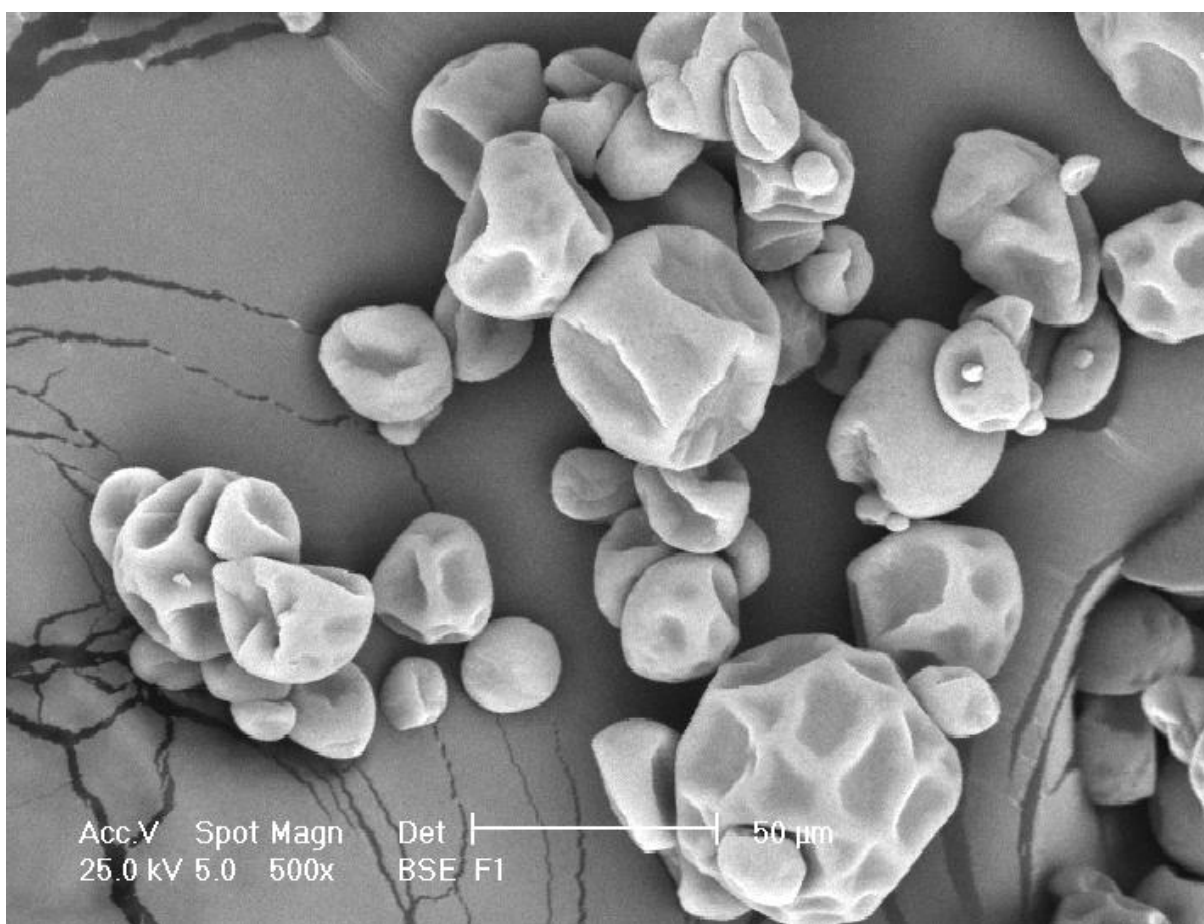
A las cápsulas obtenidas del proceso de secado por aspersión se les determinó el tamaño promedio de partícula volumétrico; las formuladas con goma Arábica presentaron un tamaño en promedio de 10.97  $\mu\text{m}$ , mientras que las microcápsulas formuladas con goma de mezquite presentaron un tamaño promedio de 11.64  $\mu\text{m}$ , estos resultados validan el hecho de que ambos biopolímeros están constituidos por los mismos componentes (polisacáridos y proteínas) y en casi las mismas proporciones, por ende los tamaños de partícula resultaron muy semejantes (Orozco-Villafuerte *et al.*, 2003). Las cápsulas son llamadas microcápsulas cuando el tamaño de partícula se encuentra en el intervalo entre 0.2 y 5000  $\mu\text{m}$ , cuando el tamaño de partícula es mayor a las 5000  $\mu\text{m}$  se les denomina macrocápsulas, y cuando presentan tamaños menores a 0.2  $\mu\text{m}$  se les denomina nanocápsulas (Barbosa-Canovas *et al.*, 2005).

Pérez-Alonso *et al.* (2009) microencapsularon salsa de chile manzano mediante secado por aspersión utilizando goma Arábica como agente encapsulante con dos relaciones de agente encapsulante con respecto al material encapsulado de 2:1 y de 4:1, presentado tamaños de partícula de 9.41  $\mu\text{m}$  y 10.43  $\mu\text{m}$ , respectivamente; concluyendo que la relación no influye de manera significativa con el tamaño de partícula de las microcápsulas. Estos resultados confirman que tanto los compuestos antioxidantes de la testa del frijol como los componentes de la salsa de chile manzano (materiales encapsulados) no influyen de manera directa con el tamaño de partícula de las microcápsulas.

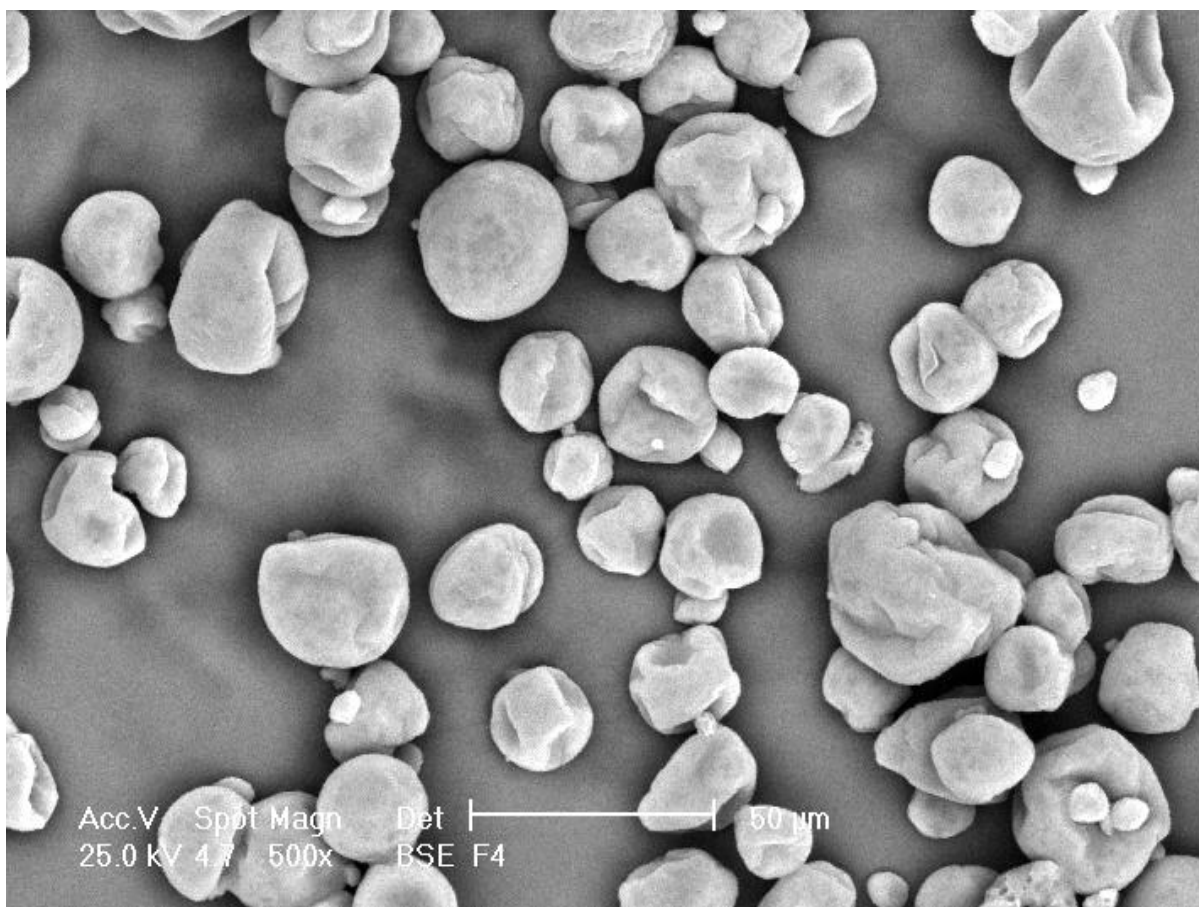
#### **6.1.2. Morfología de las microcápsulas**

Las figuras 6.1 y 6.2 muestran la morfología de la microcápsulas formuladas con goma arábica y goma de mezquite, respectivamente. Como se puede apreciar en ambas figuras, las microcápsulas presentan el tipo matriz, que es una característica del proceso del secado por aspersión donde el material encapsulado se encuentra incrustado en la parte interior de la cápsula y en el grosor de la misma (Ré, 1998). Además, las microcápsulas muestran la forma irregular que son propias del empleo de ambos tipos de biopolímeros como agentes encapsulantes (Pérez-Alonso *et al.*, 2009).

Ambos tipos de microcápsulas presentaron una morfología irregular caracterizada por partículas con superficies abolladas y rugosas; es decir, ligeramente lisas y tersas. También se evidencian cavidades en algunas partículas, pero no existen microcápsulas con grietas u orificios que infieran que el material encapsulado sea susceptible a difundirse por la membrana biopolimérica. Es importante enfatizar que aunque el análisis morfológico no confirma que las paredes de las microcápsulas estén conformadas por poros, existen trabajos publicados (Pérez-Alonso *et al.*, 2003) donde se confirma este hecho y tiene gran importancia en el sentido de que tanto la porosidad como el tamaño de poro influyen en los fenómenos difusivos tanto al interior como al exterior de las microcápsulas y que son parámetros a considerar en la retención y deterioro del material encapsulado; es decir, estos parámetros constituyen el grado de protección que ofrece tanto la goma arábiga como la goma de mezquite en la actividad antioxidante de la testa de frijol negro.



**Figura 6.1** Morfología de las microcápsulas a base de Goma Arábiga.



**Figura 6.2** Morfología de las microcápsulas a base de Goma de Mezquite.

## **6.2. Evaluación de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulada y acondicionada a distintas temperaturas y actividades de agua**

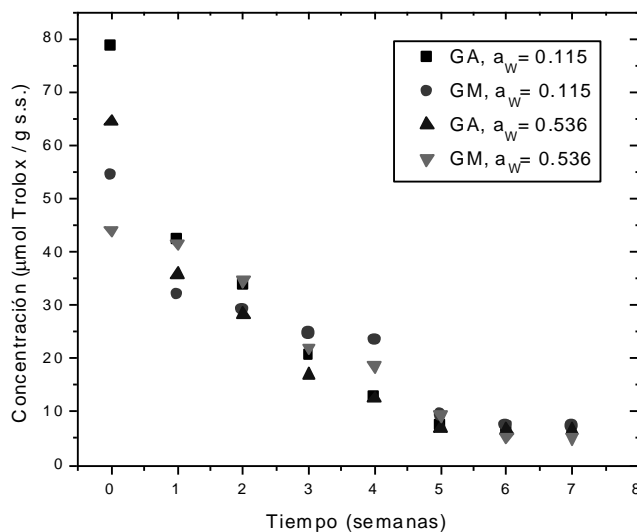
Una vez que se obtuvieron los dos tipos de microcápsulas, tanto con goma arábiga como con goma de mezquite, estas se rehidrataron para determinar la actividad antioxidante inicial de la testa de frijol negro recién encapsulada, antes de proceder a acondicionar las microcápsulas a las temperaturas de 25 y 35 °C y las actividades de agua descritas en el apartado 5.6.

**Tabla 6.1** Actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulado previo al inicio del acondicionamiento.

<b>Parámetro</b>	<b>Microcápsulas Goma Arábica</b>	<b>Microcápsulas Goma de Mezquite</b>
<b>Actividad antioxidante (<math>\mu\text{mol trolox/ g s.s.}</math>)</b>	80.59	74.94

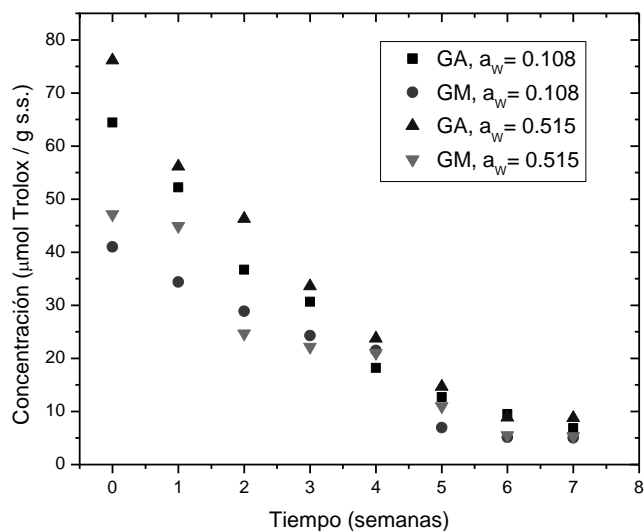
Los resultados de la concentración inicial de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro se muestran en la tabla 6.1, como se puede apreciar las microcápsulas preparadas con goma arábica muestran el valor inicial más alto comparado con el de las microcápsulas preparadas a base de goma de mezquite, esto infiere de manera inicial que la goma arábica brinda una mayor protección del material encapsulado que la goma de mezquite.

En los gráficos 6.1 y 6.2 se presentan las cinéticas de actividad antioxidante de la testa de frijol negro en ambos tipos de microcápsulas acondicionadas a las distintas temperaturas y actividades de agua descritas en el apartado 5.6. En el gráfico 6.1 se presentan las cinéticas de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro rehidratadas de las microcápsulas, las cuales se monitorearon una vez que se alcanzó el equilibrio por espacio de 7 semanas, y como se puede apreciar en los gráficos la actividad antioxidante en cada una de las cinéticas disminuyó de manera significativa con respecto a la actividad antioxidante que se tenía recién obtenidas las microcápsulas, a excepción de las microcápsulas con goma Arábica acondicionadas a una actividad de agua de 0.115. Otro aspecto relevante que se presentó, fue el hecho de que el mayor porcentaje de pérdida de actividad antioxidante se dio en la primera semana después de haber alcanzado el equilibrio.



**Gráfico 6.1.** Actividad antioxidante de la testa de frijol negro en las microcápsulas acondicionadas a  $T = 25^\circ\text{C}$ .

El gráfico 6.2 presentan las cinéticas de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro rehidratadas de las microcápsulas, las cuales se monitorearon una vez que se alcanzó el equilibrio por espacio de 7 semanas a  $T = 35^\circ\text{C}$  y a las actividades de agua de 0.108 y 0.515. De manera análoga al gráfico 6.1, las cinéticas presentaron el mismo comportamiento teniendo una actividad antioxidante más baja con respecto a las microcápsulas recién obtenidas por aspersión, a excepción de las microcápsulas de goma arábica con una actividad de agua de 0.515, mientras que los encapsulados con goma de mezquite sí presentaron una diferencia significativa con respecto a la inicial de las microcápsulas obtenidas recién secadas por aspersión. Aunque se puede apreciar tanto en el gráfico 6.1 como en el gráfico 6.2 que la pérdida de actividad antioxidante en los encapsulados con la goma de mezquite es más lento en los intervalos de tiempo a partir de la primera semana comparado con los de la goma arábica, esto evidencia que la goma de mezquite no favorece la protección de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro al inicio, pero posteriormente la membrana conformada hace más lento el proceso de pérdida de actividad antioxidante.



**Gráfico 6.2.** Actividad antioxidante de la testa de frijol negro en las microcápsulas acondicionadas a  $T= 35^{\circ}\text{C}$ .

Con los datos cinéticos de la actividad antioxidante se procedió a estimar los parámetros cinéticos en diferentes intervalos de tiempo, obteniendo tanto el orden de reacción ( $n$ ), la constante de velocidad ( $k$ ) y el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) empleando el método integral descrito en Fogler (2004). Cabe mencionar que la constante de velocidad dependiendo de su orden de reacción presenta las siguientes unidades:

$$\text{Si } n=0, \text{ entonces } k[=] \text{semanas}^{-1} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g s.s.}} \right)$$

$$\text{Si } n=1, \text{ entonces } k[=] \text{semanas}^{-1}$$

$$\text{Si } n=2, \text{ entonces } k[=] \text{semanas}^{-1} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g s.s.}} \right)^{-1}$$

La pérdida de la actividad antioxidante de las microcápsulas acondicionadas a  $T= 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  presentó distintos ordenes cinéticos en los periodos semanales de acondicionamiento; presentó 3 cinéticas parciales de orden 1 y 2 para los microencapsulados a base de goma Arábica y 4 cinéticas parciales de orden 0 y 2 para los microencapsulados con goma de mezquite. Los valores de las constantes de velocidad con sus respectivos coeficientes de correlación lineal se presentan en la Tabla 6.2, así como los valores de las constantes de velocidad parciales.

**Tabla 6.2** Valores de coeficiente de correlación, orden de reacción y constante de velocidad para la degradación polifenólica en acondicionamiento a  $T=25^{\circ}\text{C}$ .

Polímero	Actividad de Agua ( $a_w$ )	Periodo de Acondicionamiento (semanas)	Coefficiente de Correlación ( $R^2$ )	Orden de Reacción ( $n$ )	Constante de Velocidad ( $k$ )
Goma Arábica	0.536	S0-S	1	2	0.001
		S1-S5	0,9832	1	0.040
		S5-S7	0,9903	2	0.003
Goma Arábica	0.115	S0-S1	1	2	0.005
		S1-S5	0.9827	1	0.045
		S6-S7	0.997	2	0.003
Goma de Mezquite	0.536	S0-S1	1	2	0.001
		S1-S3	0.9731	0	0.982
		S3-S5	0.9301	0	0.627
		S5-S7	0.9663	2	0.004
Goma de Mezquite	0.115	S0-S1	1	2	0.001
		S1-S4	0.9702	2	0.004
		S4-S5	1	2	0.006
		S5-S7	0.8032	2	0.002

De igual forma para las microcápsulas acondicionadas a  $T= 35^{\circ}\text{C}$  la pérdida de la actividad antioxidante responde a distintos ordenes cinéticos de reacción; las microcápsulas formuladas con goma Arábica y goma de mezquite presentaron cinéticas parciales de orden 1 y 2 (ver tabla 6.3).



De manera general, los resultados que se presentan tanto en la tabla 6.2 y 6.3 establecen que las cinéticas de pérdida de actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulada tienen orden de reacción entre 0 y 2, y no hay una clara tendencia, aunque se podría decir que los encapsulados con goma de mezquite presentan prácticamente cinéticas de orden 2 a las distintas actividades de agua y temperatura, sobretodo a la  $T=35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aunque en la tabla 6.2 hay dos periodos de tiempo (de la semana 1 a la semana 5) donde la goma de mezquite estabiliza al material encapsulado, esto sucede a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $a_w=0.536$ , donde la constante de velocidad es muy grande con respecto a los demás valores presentes en la tabla 6.2 y 6.3.

Por su parte, los resultados referentes a la goma arábica, evidencian que donde existe una menor degradación del material encapsulado sucede a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  y una  $a_w=0.515$  donde las cinéticas son de primer orden.

**Tabla 6.3** Valores de coeficiente de correlación, orden de reacción y constante de velocidad para la degradación polifenólica en acondicionamiento a  $T=35^{\circ}\text{C}$ .

Biopolímero	Actividad de Agua ( $a_w$ )	Periodo de Acondicionamiento	Coefficiente de Correlación ( $R^2$ )	Orden de Reacción ( $n$ )	Constante de Velocidad ( $k$ )
Goma Arábica	0.515	S0-S3	0.991	1	0.026
		S3-S7	0.948	1	0.037
Goma Arábica	0.108	S0-S3	0.984	2	0.002
		S3-S7	0.996	1	0.036
Goma de Mezquite	0.515	S0-S1	1	2	0.001
		S1-S2	1	2	0.002
		S2-S4	0.983	2	0.002
		S4-S7	0.980	2	0.005
Goma de Mezquite	0.108	S0-S3	1	1	0.018
		S3-S4	1	2	0.006
		S4-S5	1	2	0.009
		S5-S7	0.980	2	0.003

De acuerdo a las condiciones experimentales descritas para el acondicionamiento de las microcápsulas, el tiempo de vida medio global de la actividad antioxidante microencapsulada se reporta en la Tabla 6.4. Cabe mencionar que el tiempo de vida medio se expresa en días para mayor facilidad de comprensión de los resultados.

**Tabla 6.4** Tiempos de vida medio de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro microencapsulado y acondicionado a T=25° C y T= 35 °C.

<b>Biopolímero</b>	<b>Actividad de Agua (<math>a_w</math>)</b>	<b>Temperatura de Acondicionamiento (°C)</b>	<b>Periodo de Acondicionamiento</b>	<b>Tiempos de Vida (días)</b>	<b>(<math>t_{1/2}</math>)Total (días)</b>
<b>Goma Arábica</b>	0.536	25	S0-S1	7.2378	21.93
			S1-S5	11.9508	
			S5-S7	2.7399	
<b>Goma Arábica</b>	0.115	25	S0-S1	1.8759	17.42
			S1-S5	10.8208	
			S5-S7	4.7349	
<b>Goma de Mezquite</b>	0.536	25	S0-S1	7.1853	77.9
			S1-S3	26.7064	
			S3-S5	41.8105	
			S5-S7	2.2135	
<b>Goma de Mezquite</b>	0.115	25	S0-S1	7.2411	16.76
			S1-S4	2.3352	
			S4-S5	1.5042	
			S5-S7	5.6957	

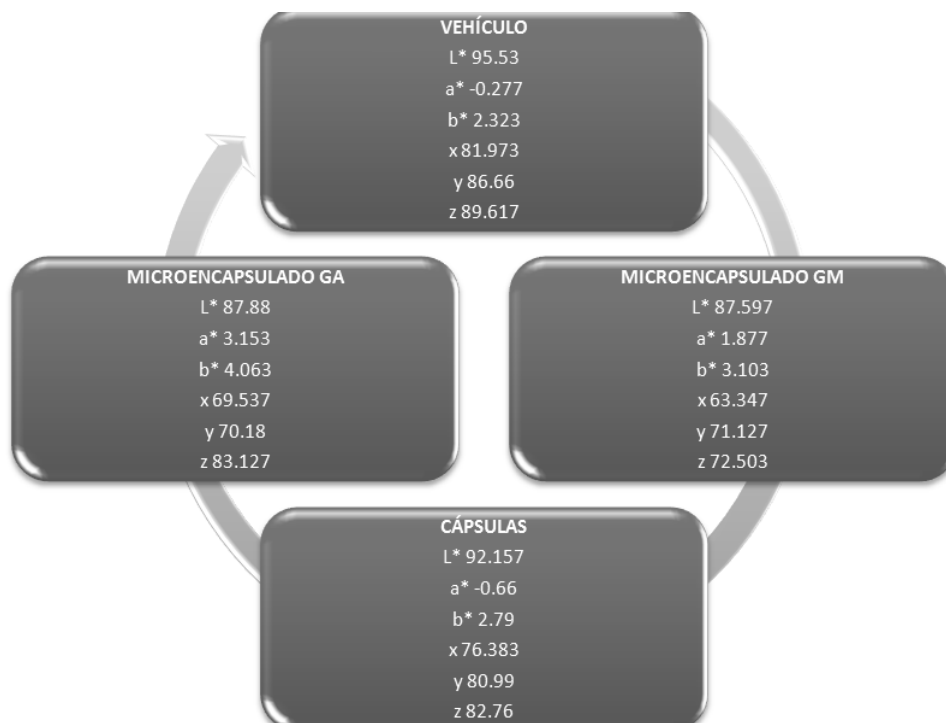
<b>Goma</b>			S0-S3	18.3789	
<b>Arábiga</b>	0.515				31.63
		35	S3-S7	13.2569	
<b>Goma</b>	0.108		S0-S3	0.3366	13.41
<b>Arábiga</b>		35	S3-S7	13.0731	
<b>Goma de</b>	0.515	35	S0-S1	0.934	
<b>Mezquite</b>			S1-S2	0.513	2.25
			S2-S5	0.606	
			S5-S7	0.193	
<b>Goma de</b>	0.108	35	S0-S3	7.8053	
<b>Mezquite</b>			S3-S4	0.169	9.267
			S4-S5	0.959	
			S5-S7	0.334	

Los microencapsulados con goma de mezquite a 25 °C y una  $a_w=0.536$  presentaron los tiempos de vida medio más altos con respecto a los demás tratamientos, presentando valores cercanos a los 80 días, esto significa que la goma de mezquite resultó ser mejor agente encapsulante en la protección de la actividad antioxidante de la testa de frijol negro. Sin embargo, sería adecuado puntualizar varios aspectos importantes: i) La temperatura y la actividad de agua influyen de manera directa en el almacenaje de las microcápsulas, haciendo que la membrana biopolimérica tanto de la goma de mezquite como de la goma Arábiga cambien su estructura y conformen estructuras más permeables o menos permeables provocando que la difusión del oxígeno contenido en el aire hacia el interior de los encapsulados favorezca o no la degradación del material encapsulado; y ii) Aunque ambos biopolímeros retardan en mayor o menor tiempo la degradación del material encapsulado, es claro que la mayor cantidad de pérdida de actividad antioxidante se lleva a cabo durante el procesamiento y acondicionamiento de las microcápsulas; es por ello que se debe implementar una mejor metodología para disminuir esta pérdida, ya que inicialmente el extracto de frijol contenía una actividad antioxidante de 222  $\mu\text{mol trolox/ g s.s.}$ , después de que se llevo a cabo el secado por aspersion esta actividad disminuyó de 222 a 80 y 75  $\mu\text{mol trolox/ g s.s.}$ , aproximadamente, y al acondicionar las microcápsulas a las distintas temperaturas y actividades de agua, la capacidad antioxidante disminuyó en algunos casos entre 40 y 60  $\mu\text{mol trolox/ g s.s.}$ , otra alternativa sería emplear

mezclas de biopolímeros que potencialicen la estructura de la membrana biopolimérica y que esta sea más robusta para disminuir la pérdida de la actividad antioxidante.

### 6.3. Evaluación del Suplemento Alimenticio

Se formuló el suplemento alimenticio según lo descrito en el apartado de la metodología 5.8, los porcentajes de activo utilizados en suplementos alimenticios rentables de una empresa de venta directa, que actualmente son comercializados en México y Centroamérica, con alta aceptación entre los consumidores, los resultados de la evaluación de propiedades organolépticas fueron los siguientes, el sabor y olor resulto indiferente a los consumidores ya que este no se percibe como agradable o desagradable y no influye de manera significativa en la ingesta del mismo, respecto al color lo describieron como agradable, teniendo una influencia positiva según los evaluadores al momento de la ingesta del producto. El color se evaluó según lo descrito en el apartado de metodología para los microencapsulados, el vehículo del suplemento y en contenido de las cápsulas obteniendo los resultados para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $z$  expresados en la Figura 6.3.



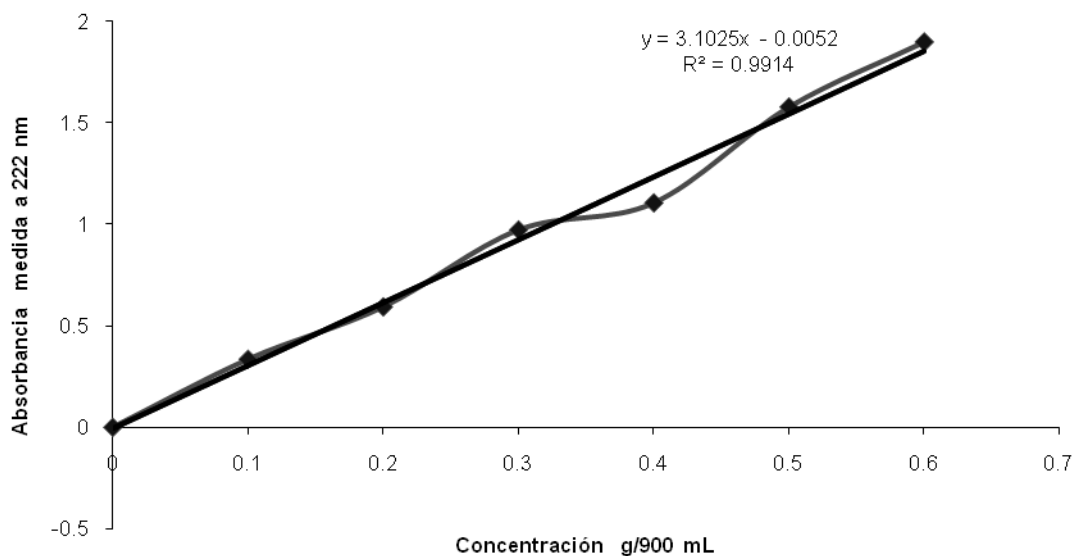
**Figura 6.3** Valores de parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $x$ ,  $y$ ,  $z$  para microcápsulas a base de goma arábica y goma de mezquite, vehículo y contenido de cápsulas de suplemento alimenticio.

Adicionalmente, el suplemento alimenticio se evaluó según los parámetros establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos de América, en el apartado de Suplementos Alimenticios, por lo cual se procedió a hacer las siguientes pruebas obteniendo los siguientes resultados.

Se realizó la prueba de disolución según lo descrito en el apartado de metodología 5.13. El detalle de las absorbancias de la curva de calibración se observan tanto en la Tabla 6.5 y de igual forma en el Grafico 6.5 muestra la curva y su respectiva regresión lineal.

**Tabla 6.5.** Datos de la curva de calibración para la prueba de disolución del suplemento alimenticio

Concentración g/900 ml	Absorbancia (222 nm)
0	0
0.1	0.335
0.2	0.593
0.3	0.972
0.4	1.105
0.5	1.577
0.6	1.897



**Grafico 6.3.** Curva de calibración para prueba de disolución de suplemento alimenticio.

A partir de la regresión lineal de los valores de la curva de calibración se obtiene la Ec. 6.1, donde C esta expresado en g de suplemento por ml de HCl 0.1 N y A es la absorbancia medida mediante espectrofotometría UV/VIS.

$$A = 3.1025 C - 0.0052 \quad (\text{Ec. 6.1})$$

Los resultados de la Tabla 6.6 muestran los datos de absorbancia obtenidos a partir del muestreo realizado durante la prueba de disolución.

**Tabla 6.6** Absorbancias medidas durante los muestreos de la prueba de disolución cada 5 minutos.

Tiempo (min)	Vaso 1	Vaso 2	Vaso 3	Vaso 4	Vaso 5	Vaso 6	Promedio
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
5	0.196	0.174	0.227	0.218	0.298	0.270	0.231
10	0.597	0.472	0.464	0.480	0.456	0.535	0.501
15	0.603	0.531	0.557	0.532	0.582	0.577	0.564
20	0.724	0.747	0.728	0.781	0.710	0.737	0.738
25	0.818	0.856	0.843	0.825	0.839	0.875	0.843
30	0.920	0.936	0.948	0.926	0.948	1.066	0.957
35	1.114	1.253	1.297	1.348	1.148	1.256	1.236
40	1.335	1.269	1.442	1.489	1.323	1.452	1.385
45	1.556	1.552	1.559	1.552	1.502	1.516	1.540
50	1.670	1.526	1.565	1.623	1.553	1.552	1.582
55	1.770	1.589	1.569	1.525	1.599	1.550	1.600
60	1.775	1.588	1.532	1.523	1.572	1.555	1.591

Despejando la Ec. 6.1 en función de A, obtenemos la Ec. 6.2.

$$C = 0.322321 A + 0.001676 \quad (\text{Ec. 6.2})$$

Mediante la cual se generan los datos de la Tabla 6.7 los cuales expresan la concentración en gramos de suplemento alimenticio en 900 ml a través del tiempo en cada uno de los vasos del aparato.

**Tabla 6.7** Concentración de suplemento alimenticio en cada vaso a través del tiempo expresado en g/900 ml.

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Vaso 1</b>	<b>Vaso 2</b>	<b>Vaso 3</b>	<b>Vaso 4</b>	<b>Vaso 5</b>	<b>Vaso 6</b>	<b>Promedio</b>
<b>0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>5</b>	0.063	0.056	0.073	0.070	0.096	0.087	0.074
<b>10</b>	0.193	0.152	0.150	0.155	0.147	0.173	0.162
<b>15</b>	0.195	0.171	0.180	0.172	0.188	0.186	0.182
<b>20</b>	0.234	0.241	0.235	0.252	0.229	0.238	0.238
<b>25</b>	0.264	0.276	0.272	0.266	0.271	0.282	0.272
<b>30</b>	0.297	0.302	0.306	0.299	0.306	0.344	0.309
<b>35</b>	0.359	0.404	0.418	0.435	0.370	0.405	0.399
<b>40</b>	0.430	0.409	0.465	0.480	0.427	0.468	0.447
<b>45</b>	0.502	0.500	0.503	0.501	0.484	0.489	0.496
<b>50</b>	0.538	0.492	0.505	0.523	0.501	0.500	0.510
<b>55</b>	0.571	0.512	0.506	0.492	0.516	0.500	0.516
<b>60</b>	0.572	0.512	0.494	0.491	0.507	0.501	0.513

Los resultados finales de la prueba de solución se expresaron en porcentaje de suplemento alimenticio disuelto en el tiempo, y se reportan en la Tabla 6.8, para reportar estos datos se utilizaron los pesos iniciales de las capsulas de cada vaso para establecer la relación de porcentaje, los cuales se encuentran reportados en la Tabla 6.9

**Tabla 6.8** Porcentaje disuelto de suplemento alimenticio en cada vaso a través del tiempo.

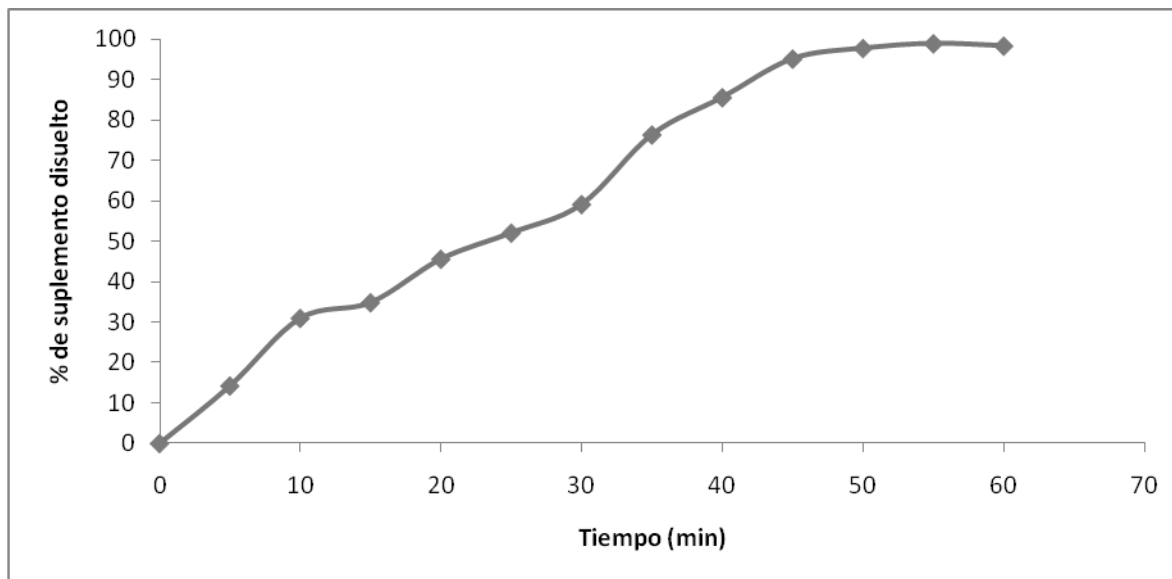
<b>Tiempo (min)</b>	<b>Vaso 1</b>	<b>Vaso 2</b>	<b>Vaso 3</b>	<b>Vaso 4</b>	<b>Vaso 5</b>	<b>Vaso 6</b>	<b>Promedio</b>
<b>0</b>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>5</b>	12.391	10.733	14.003	13.621	18.422	16.427	14.266
<b>10</b>	37.675	29.060	28.590	29.952	28.173	32.519	30.995
<b>15</b>	38.053	32.688	34.314	33.193	35.948	35.069	34.878
<b>20</b>	45.682	45.972	44.838	48.714	43.848	44.785	45.640
<b>25</b>	51.609	52.676	51.916	51.457	51.808	53.165	52.105
<b>30</b>	58.040	57.596	58.378	57.752	58.535	64.763	59.177
<b>35</b>	70.273	77.091	79.858	84.057	70.877	76.300	76.409
<b>40</b>	84.207	78.075	88.783	92.845	81.677	88.220	85.635
<b>45</b>	98.141	95.480	95.984	96.791	92.723	92.089	95.201
<b>50</b>	105.329	93.881	96.353	101.198	95.871	94.275	97.818
<b>55</b>	111.635	97.755	96.599	95.089	98.709	94.153	98.990
<b>60</b>	111.950	97.694	94.322	94.965	97.043	94.457	98.405

**Tabla 6.9** Detalle de pesos iniciales de las cápsulas utilizadas para la prueba de disolución.

<b>Cápsula</b>	<b>Peso (g)</b>
<b>1</b>	0.5112
<b>2</b>	0.5241
<b>3</b>	0.5237
<b>4</b>	0.5171
<b>5</b>	0.5223
<b>6</b>	0.5308
<b>Promedio</b>	0.5215



El Gráfico 6.4 muestra el perfil de disolución del suplemento dietético con extracto de testa de frijol negro, en el se observa un comportamiento cuasi-lineal en el intervalo de tiempo entre 42 y 45 minutos con una disolución del suplemento de más del 90%, por lo que se considera que se encuentra dentro de especificaciones en la evaluación de este parámetro y los resultados se consideran aceptables.



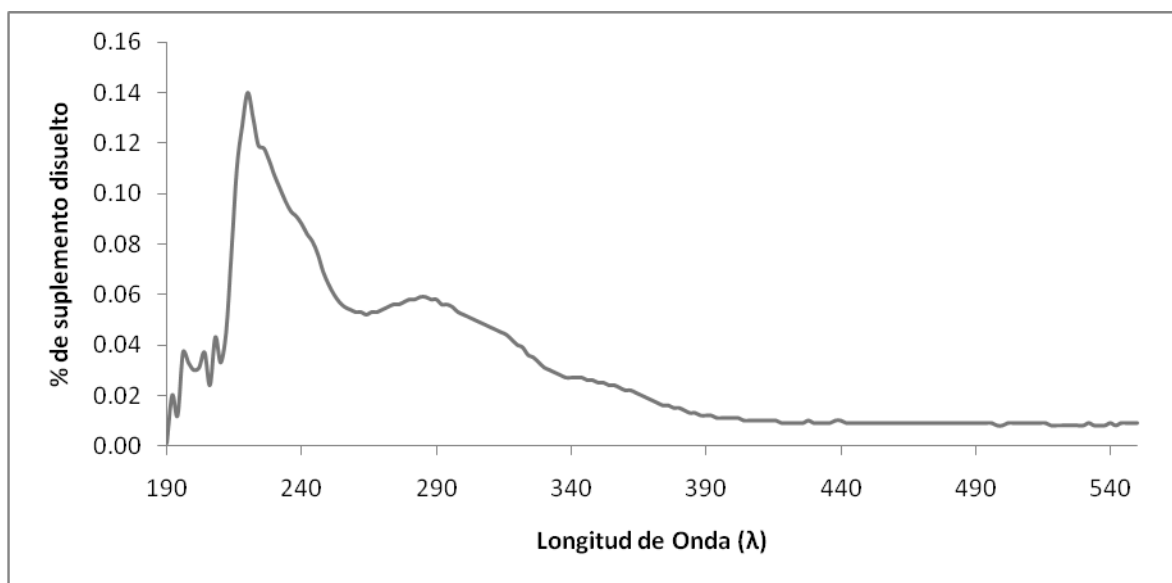
**Gráfico 6.4.** Perfil de disolución del suplemento alimenticio con extracto de testa de frijol negro.

Con respecto a la prueba de desintegración del suplemento dietético, el suplemento se desintegro en aproximadamente 38 minutos, este tiempo se considera aceptable para un suplemento dietético de la naturaleza del evaluado en este trabajo, de acuerdo a lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos de América, en el apartado de Suplementos Alimenticios, donde se establece como aceptables tiempos menores a 60 min.

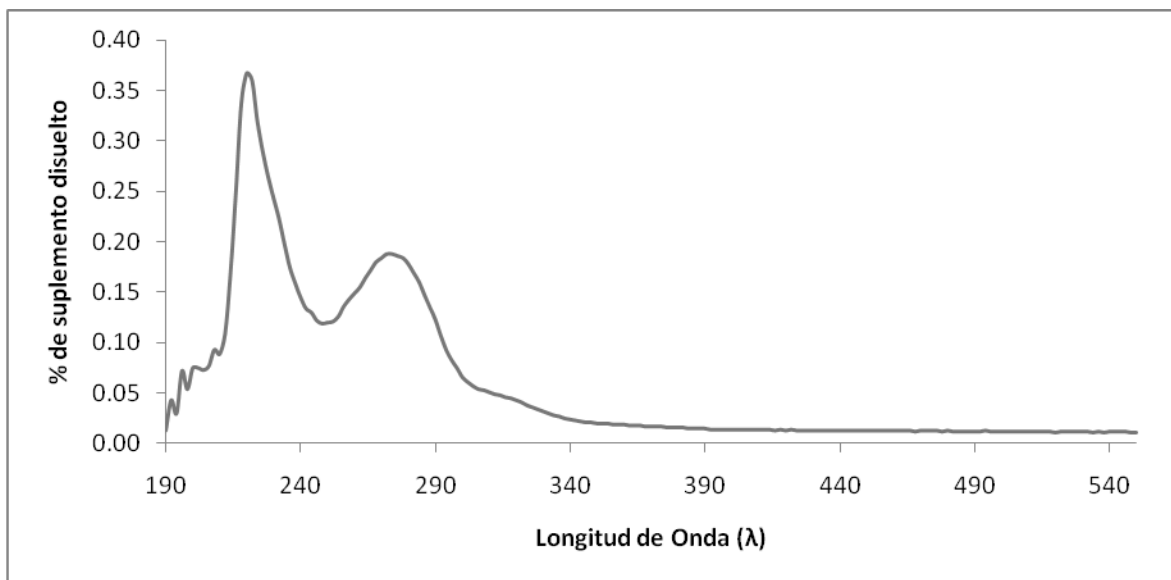
El análisis del porcentaje de humedad según lo descrito en la metodología de este trabajo arrojó un resultado de 3.73% aceptable para preparados a base de drogas en estado sólido (secas), esto conlleva a inferir que el porcentaje de humedad no afectaría la cápsula que protege a los ingredientes del suplemento.

Se evaluó la solubilidad, se requirieron 2 partes de agua (20 ml) para disolver una de suplemento alimenticio (10 g) determinando que éste es fácilmente soluble en agua, de acuerdo a los parámetros establecidos en el apartado de antecedentes de acuerdo a lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos de América, en el apartado de Suplementos Alimenticios.

Finalmente, la identificación cualitativa de los ácidos fenólicos presentes en el extracto de la testa de frijol y en el suplemento alimenticio arrojó los siguientes picos de absorción; el grafico 6.5 muestra el pico de absorción del extracto de la testa de frijol negro encapsulado, mientras que el grafico 6.6 muestra el del suplemento alimenticio con extracto de testa de frijol negro, determinándose así correspondencia en la zona de los compuestos fenólicos como lo son las antocianinas. (200-300 nm).



**Grafico 6.5.** Gráfico de identificación espectrofotométrica de extracto de testa de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*)



**Grafico 6.6.** Gráfico de identificación espectrofotométrica de suplemento alimenticio con extracto de testa de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*)

En base al estudio de la degradación de la capacidad antioxidante, evaluación del suplemento alimenticio y la posterior identificación cualitativa de antocianinas en el complejo alimenticio enriquecido con vitaminas, en los porcentajes máximos permitidos por la legislación mexicana, se concluye que este es un suplemento eficaz contiene antioxidantes por un periodo de tiempo de alrededor de 140 días, esto apoyado en el análisis de tiempos de vida medio realizados en este trabajo.

# CONCLUSIONES

## 7. CONCLUSIONES

- Mediante la técnica del secado por aspersión se logró encapsular el extracto acuoso de la testa de frijol negro que contiene una actividad antioxidante de aproximadamente 222  $\mu\text{mol}$  trolox/ g s.s. empleando como agentes encapsulantes goma Arábica y goma de mezquite.
- Las microcápsulas obtenidas con los biopolímeros presentaron tamaños promedio de partícula entre 10 y 12  $\mu\text{m}$ , este tamaño se encuentra dentro de la clasificación de los encapsulados conocidos como tipo matriz que son característicos del tamaño micro. Además la morfología presente en estos encapsulados tuvo formas irregulares, superficies rugosas, pero no hubo evidencia de fracturas u orificios que constataran que el material encapsulado se difundía al exterior del biopolímero.
- La temperatura y la actividad de agua influyen de una manera aleatoria en las cinéticas del proceso de pérdida de actividad antioxidante de la testa de frijol encapsulada, donde las microcápsulas con goma de mezquite presentaron comportamientos sin una tendencia bien definida, mientras que en las primeras semanas de acondicionamiento, la pérdida resultó ser mayor y conforme avanzaba el tiempo, la membrana biopolimérica estabilizaba mejor al extracto de la testa de frijol.
- Se concluye que el producto elaborado a base de encapsulado de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) es un producto eficaz, que asegura el contenido de antioxidantes durante un periodo de alrededor de 2 meses cuando es encapsulado con goma Arábica a 35 °C y una actividad de agua de 0.515. Además este producto cumple con los parámetros establecidos por la legislación para suplementos alimenticios tanto en cuestiones relacionadas con las concentraciones máximas de vitamina y minerales óptimas para el consumo diario, como por los parámetros exigidos para formulaciones a base de drogas secas en tiempo de disolución, desintegración y solubilidad, se considera a éste un producto que puede digerirse con facilidad además de solubilizarse adecuadamente en los fluidos corporales, lo cual permitirá que el consumo del producto aporte nutrientes y provea de efectos beneficiosos al consumidor.

# **BIBLIOGRAFÍA**

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Akond A.S.M., Khandaker L., Berthold J., Gates L., Peters K., Delong H., Hossain K. (2011). Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common bean. *American Journal of Food Technology*, 6(5), 385-391.
- Ambigaipalan P., Hoover R., Donner E., Liu Q., Jaiswal S., Chibbar R., Nantanga K.K.M., Seetharaman K. (2011). Structure of faba bean, black bean and pinto bean starches at different levels of granule organization and their physicochemical properties. *Food Research International*, 44, 2962-2974.
- Amrita K., Dabur R.S., Kapoor C.M. (1999). Application of microencapsulation technology in dairy industry. *Indian Food Industry*, 18, 57-64.
- Barbosa M.I.M.J., Borsarelli C.D., Mercadante A.Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38, 989-994.
- Barbosa-Cánovas G.V., Ortega R.E., Juliano P., Yan H. (2005). Food powders. Physical properties, processing and functionality. Kluwer Academia Plenum Publishers, E.U.A. Pp 200-207.
- Berninger C.W., Gu L., Prior R.L., Junk D.C., Vanderberg A., Bett K. (1998). Changes in polyphenols of the seed coat color in (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4079-4082.
- Beninger C.W., Hosfield G.L. (1999). Antioxidant activity of extracts, condensed tannin Fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51 (27), 7879-7883.
- Berard N.C., Wang Y., Wittenberg K.M., Krause D.O., Coulman B.E., McAllister T.A., Ominski K. H. (2011). Condensed tannin concentrations found in vegetative and mature forage legumes grown in western Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(4), 669-675.
- Bernal J., Mendiola J.A., Ibáñez E., Cifuentes A. (2011). Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55, 758- 774.
- Bressani R., Elias L.G., Braham J.E. (1982). Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. *Journal Plant Foods*, 4, 43-55.
- Bressani R., Elias L.G. (1979). Nutritional Value of legume crops for human and animals, *Advances in Legume Science, Royal Botanic Gardens, Ministry of Agriculture*, Gran Bretaña, 135-155.
- Bourdon I., Olson B., Backus R., Richter B.D., Davis P.A., Schneeman B.O. (2001). Beans, as a source or dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 response to testmeals in men. *Journal Nutrition*, 131, 1485:1490.

Cansfield P.E., Marquardt R.R., Campbell L.D. (1980). Condensed proanthocyanidins of faba beans. *Journal Science Food and Agriculture*, 31, 802-812

Cardador-Matínez A., Loarca-Piña G., Oomah B.D. (2002). Antioxidant activity in common beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6975-6980.

Carrasco-Castilla J., Hernández-Álvarez A.J., Jiménez-Martínez C., Jacinto-Hernández C., Alaiz M., Girón-Calle J., Vioque J., Dávila-Ortiz G. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. *Food Chemistry*, 131, 1157-1164.

Caldera C.A., Shipe W.F. (1994). Effect of storage conditions and chemical treatments on firmness, in vitro protein digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Food Science*, 51, 982-987.

Chasquibol N., Lengua L., Delmás D., Bazán D., Aguirre R., Bravo M. (2003). Alimentos funcionales: Clasificación e importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 5(2), 9-20.

Choi K.O., Ryu J., Kwak H.S., Ko S. (2010). Spray-dried conjugated linoleic acid encapsulated with Maillard reaction products of whey proteins and maltodextrin. *Food Science and Biotechnology*, 19 (4), 957-965.

Cohen P.A. (2012). A false sense of security? The U.S. food and drug administration's framework for evaluating new supplement ingredients. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(5), 458-460.

De España M.E.F., Estudio sobre las posibles relaciones entre parámetros físicos, químicos y nutricionales en *Phaseolus Vulgaris* L., B.S. Thesis CESNA/INCAP, cited in Bressani and Elias (1980). *The nutritional role of polyphenols in cereal and legumes. The International Development Research Centre*, Ottawa, Canada, 61-72.

De Lumen B.O. and Salamant L.A. (1980). Trypsin inhibitor activity in winged beans (*Psophocarpus tetragonolubus* var *Chimbu*) and the possible role of tannin, *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 28, 533-536.

Desai G.K., Park J.H. (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361-1394.

Deshpande S.S., Cheryan, M. (1987). Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. *Journal Food Science*, 52, 332-334.

Díaz A.M., Caldas G.V., Blair M.W. (2010). Concentrations of condensed tanins and anthocyanins in common bean seed coats. *Food Research International*, 43(2), 595-601.



- Dickinson E. (1992). An introduction to food colloids. Oxford University Press, Oxford, Pp. 207.
- Elias L.G., Fernández D.G., Bressani R. (1979). Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. *Journal Food Science*, 44, 524-527.
- Fang Z, Bahandari B. (2010). Encapsulation of polyphenols-a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 510-523.
- Fang Y., Rogers S., Selomulya C., Dong C. X. (2012). Functionality of milk protein concentrate: Effect of spray drying temperature. *Biochemical Engineering Journal*, 62, 101–105.
- Fennema O.R. (2000). Química de los Alimentos, 2a Edición, Acribia, España.
- Finney J., Buffo R., Reineccius G.A. (2002). Effects of type of atomization and processing temperatures on the physical properties and stability of spray-dried flavors. *Journal of Food Science*, 67 (3), 1108-1114.
- Fogler, H.S., *Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas*, Editorial Prentice Hall, Tercera Edición, 2004,
- Geil P.B., Anderson, J.W., (1994), Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13:549-558.
- Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambón O., Voilley A., Saurel R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Gutiérrez G., Osorio G., Jiménez A., Pyle L. (1998). An Assessment of droplet-air contact and spray drying performance in bioprocess engineering. *Advances in Bioprocess Engineering*, 11, 251-275.
- Gutiérrez S., Quesada S., Díaz C., Murillo E. (2008). Carotenoid composition and antioxidant activity of the raw and boiled fruit mesocarp of six varieties of *Bactris gasilsaes*. *Archivo Latinoamericano de Nutrición*, 60(1), 99-104
- Guzmán-Maldonado H., Acosta- Gallegos J., Paredes-López O. (2000). Protein characteristics and mineral contents o a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) *Journal Science of Food and Agriculture*, 80, 1874-1881.
- Guzmán-Maldonado H., Castellanos J., González De Mejía E. (1996). Relationship between theoretical and experimentally detected tannin content of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *Food Chemistry*, 55 (4), 333-335.
- Haborne J.B., Simmonds G. (1964). Effect of PR and pr alleles on anthocyanin biosynthesis in *Zea mays*. *Phytochemistry*, 8, 999-1001.

- Heimler D., Vignolini P., Giulia D., Romani A. (2005). Rapid test to access the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3053-3056.
- Hempel J., Bohm H. (1996). Quality and quantity of prevailing flavonoid glycosides of yellow and green French beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44, 2114-2116.
- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992). Content potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2379-2383.
- Itagi H.B.N., Singh V. (2012). Preparation, nutritional composition, functional properties and antioxidant activities of multigrain composite mixes. *Journal of Food Science and Technology*, 49 (1), 74-81.
- Kadam L.S., Kute L.S., Lawande K.M., Salunke D.K. (1982). Changes in Chemical composition of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* L.) during seed development, *Journal Food Science*, 47, 2051-2053, 2057.
- Kaur C., Kapoor H.C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 153-161.
- López-Franco Y. L., Goycoolea F. M., Valdez M. A., Calderón de la Barca A. M. (2006). Goma de mezquite, una alternativa de uso industrial. *Interciencia*, 31(3), 183-189.
- Madene A., Jacquot M., Scher J., Desobry S. (2006). Flavor encapsulation and controlled release- a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1-21.
- Marquardt R.R., Huisman J., Poel T.F.B. (1978). Dietary effects of tannins, vicine and convicine in recent advances of research in antinutritional factor in legume seeds. *Wageningen, The Netherlands*, 141-155.
- Martin-Tanguy L., Guillaume J., Kossa A. (1977). Condensed tannins in horse bean seeds: chemical structure and apparent effect poultry. *Journal Science and Food Agriculture*, 28, 757-765.
- Maritez- Valverde I., Periago M.I., Ros, G. (2000). Nutritional Importance of phenolic compounds in the diet. *Archivo Latinoamericano de Nutrición*, 50(1), 5-18
- Moreno I.G., Long-Ze L., James M.H., Marcial S.P.C., Devanand L.L. (2002). The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Food Chemistry*, 107, 399-410.
- Oakley D.E. (1997). Produce uniform particles by spray drying. *Chemical Engineering Progress*, 1, 48-54.

- Orozco-Villafuerte J., Cruz-Sosa F., Ponce-Alquicira E., Vernon-Carter E.J. (2003). Mesquite gum: Fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees. *Carbohydrate Polymers*, 54, 327-333.
- Ovando-Martínez M., Bello-Pérez L.A., Whitney K., Osorio-Díaz P., Simsek S. (2011). Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. *Carbohydrate Polymers*, 85, 54-64.
- Pavón-García L.M.A., Pérez-Alonso C., Orozco-Villafuerte J., Pimentel-González D.J., Rodríguez-Huezo M.E., Vernon-Carter E.J. (2011). Storage stability of the natural colourant from *Justicia spicigera* microencapsulated in protective colloids blends by spray-drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1428-1437.
- Pedroza-Islas R., Vernon-Carter E. J., Durán-Domínguez C., Trejo-Martínez S. (1999). Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation-I, Microcapsule particle size, morphology and microstructure. *Food Research International*, 32, 367-374.
- Pérez-Alonso C., Báez-González J.G., Beristain C.I., Vernon-Carter E.J., Vizcarra-Mendoza M.G. (2003). Estimation of the activation energy of carbohydrate polymers blends as selection criteria for the use as wall material for spray-dried microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, 53, 197-203.
- Pérez-Alonso C., Beristain C.I., Lobato-Calleros C., Rodríguez-Huezo M.E., Vernon-Carter E.J. (2006). Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 753-760.
- Pérez-Alonso C., Fabela-Morón M.F., Guadarrama-Lezama A.Y., Barrera-Pichardo J.F., Alamilla-Beltrán L., Rodríguez-Huezo M.E. (2009). Interrelationship between the structural features and rehydration properties of spray dried manzano chilli sauce microcapsules. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(2), 187-196.
- Price M.L., Hagerman A.E., Butler L.G. (1980). Tanin content of copweas, pigeon peas and mung beans, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 28, 459-461.
- Ré M.I. (1998). Microencapsulation by spray-drying. *Drying Technology*, 16, 1195-1236.
- Ré M.I. (2006). Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying. *Drying Technology*, 24, 433-446.
- Ready N.R., Pierson M.D., Sathe S.K., Salunke D.K. (1985). Dry beans tannins: a review or nutritional implications. *Journal American Oil Chemistry Society*, 62, 541-549.
- Rehman Z., Salariya A.M., Zafar S.I. (2001). Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 73, 351-355.

Reyes-Moreno H., Paredes-López O., Castellanos-Ramos J.Z. (1993). Relationship between theoretical and experimentally detected tannins of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 55(4), 333-335.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant Science*, 2(4), 152-159.

Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20 (7), 933- 956.

Rodríguez-Huezo M. E., Pedroza-Islas R., Prado-Barragán L. A., Beristain C. I., Vernon-Carter E. J. (2004). Microencapsulation by spray-drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal of Food Science*, 69, E351-E359.

Rosales, L., Gomes, J.C., Stringheta, P.C., Gontijo, A.M., and Salvadori, D.M.F., (2005), Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a protective agent against DNA damage in mice. *Food Chemistry Toxicology*, 41, 1671-1676.

Salinas- Moreno Y., Rojas-Herrera L., Sosa-Montes E., Pérez-Herrera P. (2005). Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia*, 39, 385-394.

Sánchez-Sáenz E.O., Pérez-Alonso C., Cruz-Olivares J., Román-Guerrero A., Báez-González J.G., Rodríguez-Huezo M.E. (2011). Establishing the most suitable storage conditions for microencapsulated allspice essential oil entrapped in blended biopolymers matrices. *Drying Technology*, 29(8), 863-872.

Sang S.Y., Jamharee F., Prasad K.N., Azlan A., Maliki N. (2011). Influence of drying treatments on antioxidant capacity of forage legume leaves. *Journal of Food Science and Technology*, DOI: 10.1007/s13197-011-0596-5.

Sathe S.K., Salunke D.K., (1981). Investigations on winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* L.) proteins and nutritional factors, *Journal Food Science*, 46, 1389-1393.

Serrano E., Castaño-Tostado E., Loarca-Piña G. (2004). Antimutagenic effects of natural phenolic compounds in beans. *Mutate Research*, 441, 1-9.

Shahidi F., Naczk R., Zadernowski R. (2004). Phenolics in Food and natural health products, *ACS, Symposium series 909; American Chemical Society*, 57-66.

Shun-Cheng R., Ze-Long L., Peng W. (2011). Proximate composition and flavonoids content and in vitro antioxidant activity of 10 varieties of legume seeds grown in China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 301–308.

Sosulski, F.W., Dabroski, K.J. (1984), Composition of free and hydrolysable phenolic acids in the flours and hulls of ten legumes species, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 131-133.

Takeoka G.R., Dao L.T., Full G.H., Wong R.Y., Harden L.A., Edwards R.H. (1997). Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3395-3400.

Tibe O., Meagher L.P., Fraser K., Harding D.R. K. (2011). Condensed tannins and flavonoids from the forage legume sulla (*Hedysarum coronarium*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9402-9409.

Tonon R.V., Brabet C., Hubinger M.D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried acai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43, 907-914.

Tonon R.V., Freitas S.S., Hubinger M.D. (2011). Spray drying of Açai (*Euterpe Oleraceae* Mart.) juice: Effect of inlet air temperature and type of carrier agent. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 691-700.

Umhau J.C., Garg K., Woodward A.M. (2012). Dietary supplements and their future in health care: Commentary on draft guidelines proposed by the food and drug administration. *Antioxidants & Redox Signaling*, 16(5), 461-462.

Valdés S.T., Medeiros C.C.M., Michelluti D.J., Garcia T.V.L.C. (2011). Association of genotype and preparation methods on the antioxidant activity, and antinutrients in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2104-2111.

Vernon-Carter E.J., Beristain C.I., Pedroza-Islas R. (2000). Mesquite gum (*Prosopis* gum). In G. Doxastakis, & V. Kiosseoglou (Eds.), (pp. 217-238). *Novel Macromolecules in Food Systems*. Amsterdam: Elsevier.

Vázquez C, De Cos A, López-Nomdedeu C (eds.). *Alimentación y Nutrición*. Madrid, España, Editorial Díaz de Santos, 2ª ed., 2005

Xu B.J., Chang S.K.C. (2008). Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *Journal Food Science*, 73 (2), H19-H27.

Xu B.J., Sam K., Chang C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 4754-4764.