



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

Microencapsulación de antioxidantes de cacao

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTOR: Villamagua León, Miguel Alejandro

DIRECTOR: Meneses Chamba, Miguel Ángel, PhD.

LOJA – ECUADOR

2017



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2017

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor

Miguel Ángel Meneses Chamba

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: “Microencapsulación de antioxidantes de cacao”, realizado por Miguel Alejandro Villamagua León, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Septiembre del 2017

f).

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, Miguel Alejandro Villamagua León, declaro ser autor del presente trabajo de titulación: “Microencapsulación de antioxidantes de cacao” de la Titulación de Ingeniería en Alimentos, siendo el Dr. Miguel Ángel Meneses Chamba director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

f.

Autor: Miguel Alejandro Villamagua León
Cédula: 1104437585

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a la persona más especial y más querida en mi vida, mi madre, quien me ha brindado su amor, su bendición y su paciencia, para mi crecimiento personal y profesional; a mi hermano, a quien lo quiero demasiado y ha sido mi mejor amigo y compañero de vida; a mi Papá Vicente, que en paz descanse, quien se sentiría orgulloso y a mi abuelita por su cariño incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por darme sus bendiciones.

A mi madre, quien me da la fuerza y su cariño para terminar este nuevo capítulo de mi vida.

A mi hermano, quien ha sido mi compañero, mi amigo, mi ayuda en el transcurso de toda mi vida.

A mi Papá Vicente y mi abuelita, quienes me ayudaron y me brindaron sus consejos.

Al Doctor Miguel Ángel Meneses, por impartir sus conocimientos y ayuda en el trayecto de mi vida universitaria y en el desarrollo de este trabajo.

A mis profesores universitarios, quienes van a ser la base para el crecimiento de mi carrera profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN.....	3
GLOSARIO.....	5
MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. <i>Theobroma cacao</i> L.	7
1.2. Composición bioquímica del cacao.....	8
1.2.1. Compuestos antioxidantes del cacao.	9
1.3. Extracción de antioxidantes.	10
1.4. Tecnología del secado por aspersión.	11
1.5. Microencapsulación de antioxidantes.	13
METODOLOGÍA.....	17
2.1. Lugar de desarrollo.	18
2.2. Materia prima.	18
2.3. Extracción de compuestos antioxidantes.....	18
2.4. Análisis de sólidos totales.	19
2.5. Atomización de los antioxidantes del cacao.	19
2.6. Cuantificación de antioxidantes.	19
2.6.1. Método de Fenoles Totales.....	19
2.6.2. Método de DPPH.	20
2.6.3. Método de ABTS.....	20
2.6.4. Método de FRAP.....	21
2.7. Análisis experimental.	21
RESULTADOS	22
3.1. Cuantificación de capacidad antioxidantes en el extracto acuoso.....	23
3.2. Cuantificación de capacidad antioxidantes en el producto atomizado.....	24
3.2.1. Cuantificación de Fenoles Totales.....	26

3.2.2. Cuantificación de antioxidantes por el Método DPPH.	26
3.2.3. Cuantificación de antioxidantes por el Método ABTS.	27
3.2.4. Cuantificación de antioxidantes por el Método FRAP.	28
CONCLUSIONES.....	31
RECOMENDACIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de <i>Theobroma cacao</i> L.	7
Figura 2. Semillas de cacao.	8
Figura 3. Diagrama del proceso de secado por atomización.	13
Figura 4. Cacao en polvo desengrasado	18
Figura 5. Rotoevaporación de extractos.	18
Figura 6. Atomización en Mini Spray Dryer B-290.	19
Figura 7. Diagrama de pareto para Fenoles Totales.....	26
Figura 8. Gráfica de efectos principales para Fenoles Totales.	26
Figura 9. Diagrama de pareto para DPPH.	27
Figura 10. Gráfica de efectos principales para DPPH.....	27
Figura 11. Diagrama de pareto para ABTS.....	28
Figura 12. Gráfica de efectos principales para ABTS.	28
Figura 13. Diagrama de pareto para FRAP.....	29
Figura 14. Gráfica de efectos principales para FRAP.	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción mundial de cacao por continentes (2015 y 2016).	8
Tabla 2. Producción mundial de cacao por países (2015 y 2016).	8
Tabla 3. Composición de granos secos de cacao.....	9
Tabla 4. Investigaciones sobre microencapsulación de antioxidantes.....	16
Tabla 5. Cuantificación de antioxidantes en el extracto acuoso.	23
Tabla 6. Cuantificación de antioxidantes del producto atomizado.	25

RESUMEN

Theobroma cacao L. es un árbol nativo de Sur América y las semillas del fruto contienen polifenoles, los cuales son sensibles a diversos factores ambientales. En este estudio, se utilizó la tecnología de secado por aspersión para la microencapsulación de los antioxidantes presentes en el polvo de cacao. La extracción de los antioxidantes se realizó por extracción por solventes, utilizando maceración dinámica, en una solución de etanol:agua (50%) a una temperatura de 40 °C, para luego, eliminar el etanol por rotoevaporación. Los extractos se atomizaron modificando los parámetros de temperatura de entrada de aire (140, 155 y 170 °C), flujo de alimentación (20, 30 y 40 %) y concentración de sólidos en solución ajustado con maltodextrina (5, 7.5 y 10 %). Luego se evaluó el contenido de fenoles totales por método de Folin-Ciocalteu y capacidad antioxidante por los métodos FRAP, ABTS y DPPH. Los extractos presentaron una alta capacidad antioxidante y se determinó que la concentración de sólidos afectó significativamente la capacidad antioxidante del producto atomizado, el cual puede ser usado para elaborar alimentos con posibles efectos funcionales.

PALABRAS CLAVES: polifenoles, secado por aspersión, polvo de cacao, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Theobroma cacao L. is a native tree of South America, the seeds of the fruit contain polyphenols, which are sensitive to different environmental factors. In this study, spray drying technology was used to microencapsulate the antioxidants present in cocoa powder. The extraction of the antioxidants from cocoa powder was carried out by solvent extraction using dynamic maceration in a solution of ethanol:water (50%) at temperature of 40 °C, then, ethanol was removed by rotoevaporation. The extracts were spray-dried by modifying: air inlet temperature (140, 155 and 170 °C), feed flow (20, 30 and 40%) and the concentration of solids adjusting with maltodextrin (5, 7.5 and 10%). Finally, total phenol content was evaluated by Folin-Ciocalteu method and antioxidant capacity were evaluated by the FRAP, ABTS and DPPH methods. The extracts presented a high antioxidant capacity and it was decided that the solids concentration significantly affected the antioxidant capacity of the spray drying product, which can be used to elaborate foods with possible functional effects.

KEYWORDS: polyphenols, spray drying, cocoa powder, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

El presente estudio consiste en la microencapsulación de antioxidantes de cacao por el método de secado por aspersión. El capítulo 1 muestra una reseña histórica del cacao, las características bioquímicas del fruto y los subproductos, los compuestos antioxidantes y fundamentos de la microencapsulación utilizando la tecnología de atomización. El capítulo 2 describe la materia prima y métodos utilizados para la realización del estudio. Finalmente, en el capítulo 3 se muestran los resultados obtenidos y la comparación con los resultados de datos bibliográficos.

Theobroma cacao L. es un árbol nativo de Sur América, el cual se ha extendido a diversas zonas del mundo. Los granos de cacao se han utilizado por más de 2600 años, y hasta el día de hoy se han vuelto populares en toda Europa y el mundo para elaborar diversos productos, en el que el chocolate es uno de los más importantes. La producción de cacao en Ecuador representa el 5% de la producción total de cacao con 260.000 toneladas registradas durante el año 2015.

Las semillas del cacao han despertado un interés importante a nivel nutricional por su contenido de polifenoles, micronutrientes que actúan como antioxidantes en el cuerpo humano. Los productos derivados, como el polvo de cacao, son ricos en flavonoides, como flavan-3-ol o flavanoles e incluyen las formas monoméricas y oligoméricas denominadas como procianidinas.

Como los compuestos fenólicos son sensibles al calor, la técnica de microencapsulación por secado por aspersión ha resultado satisfactoria en varias investigaciones, por ello, se pretende utilizar la tecnología mencionada para la microencapsulación de los antioxidantes presentes en el polvo de cacao, este proceso permitirá protegerlos contra el deterioro, dando estabilidad y control adecuado en la liberación, para obtener el máximo beneficio al consumidor.

Los extractos del cacao en polvo presentan una alta capacidad antioxidante usando la metodología empleada. El análisis del contenido polifenólico del producto atomizado permitió identificar que la concentración de maltodextrina es el factor estadísticamente significativo, por lo que al incrementar la concentración del encapsulante, la capacidad antioxidante disminuye.

Al desarrollar el estudio se aumentó el flujo de aire de 30 a 60 mm/h en el equipo de atomización debido a que el producto se adhería a las paredes del cilindro de pulverización.

La extracción de los antioxidantes del polvo de cacao se realizó por extracción por solventes, utilizando maceración dinámica, en una solución de etanol:agua (50%) a una temperatura de 40 °C, para luego, eliminar el etanol por rotoevaporación. Los extractos se atomizaron modificando los parámetros de temperatura de entrada de aire, flujo de alimentación y concentración de sólidos en solución. Al producto obtenido se evaluó el contenido de fenoles totales por método de Folin-Ciocalteu y capacidad antioxidante por los métodos FRAP, ABTS y DPPH para determinar la influencia de los parámetros del proceso de microencapsulación de antioxidantes del cacao.

GLOSARIO

HPLC-DAD: High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection

VCEAC: Capacidad antioxidante equivalente a Vitamina C.

EAG: equivalente Ácido Gálico.

ET: equivalente de Trolox.

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

Trolóx: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid.

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid).

TPTZ: 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine.

FRAP: poder antioxidante reductor hierro.

mM: mili mol.

μM: micro mol.

g: gramo.

mg: miligramo.

mcg: microgramo.

μL: micro litro.

L: litros.

mm: milímetro.

μm: micrómetro

nm: nanómetro.

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1.1. *Theobroma cacao* L.

Theobroma cacao L. es un árbol nativo de Sur América, el cual se ha extendido a zonas de Centro América, Asia y África con climas tropicales. *Nacional*, *Criollo*, *Forastero* y *Trinitario*, son los cuatro tipos de *Theobroma* más conocidos. El tallo alcanza a medir 1.5 metros de largo y sus raíces hasta 2 metros. Sus flores están formadas por pétalos blancos y rosados y el fruto contiene semillas, llamadas almendras, las cuales están rodeadas por una pulpa blanca y azucarada. La composición de las semillas del fruto, aproximadamente de 20-50% de grasa, permite la producción del chocolate (Afoakwa, 2010; Lecumberri et al., 2007; León, 2000). El fruto de *T. cacao* se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Fruto de *Theobroma cacao* L.
Fuente: (Andrade Arango, 2016).
Elaboración: El Autor.

Los granos de cacao se han utilizado por más de 2600 años (Lecumberri et al., 2007), los Aztecas e Incas los usaban como moneda, así como para la preparación de una bebida denominada “chocolatl” (Afoakwa, 2010). Fueron llevados por primera vez a Europa por Cristóbal Colón, pero en 1520, Hernán Cortés introdujo la bebida por primera vez en España, la cual fue mezclada con azúcar y bebida por la aristocracia. Luego de varios años, la producción de cacao se volvió popular en toda Europa y el mundo partiendo desde el año 1728, donde se creó la primera fábrica de chocolate en la ciudad de Londres (Beckett, 2008).

Según Afoakwa (2010), los factores de crecimiento óptimo de *Theobroma cacao* son de 20-30 °C, 2500 mm de precipitaciones anuales y 2000 horas de sol por año. En el año 2007, la producción anual de cacao fue liderada por la zona Oeste de África con el 70,4 % de la producción mundial. En la Tabla 1 y 2 se indica la producción mundial de cacao.

Costa de Marfil es el mayor productor de cacao a nivel mundial con 1,581,000 toneladas registradas en el 2016, en cambio Ecuador representa el 5% de la producción total con 260.000 toneladas registradas durante el año 2015 (ANECACAO, 2015; ICCO, 2017).

Tabla 1. Producción mundial de cacao por continentes (2015 y 2016).

Continentes	Miles de Toneladas
África	3013
América	744
Asia y Oceanía	435

Fuente: (ICCO, 2017).
Elaborado por: El Autor.

Tabla 2. Producción mundial de cacao por países (2015 y 2016).

Países	Miles de Toneladas
Costa de Marfil	< 400
Ghana	< 400
Brasil	100-400
Ecuador	100-400
Colombia	10-100

Fuente: (ICCO, 2017).
Elaborado por: El Autor.

1.2. Composición bioquímica del cacao.

La fruta del cacao contiene entre 30 y 40 semillas o almendras de color externo marrón rojizo y el interior de color marrón oscuro debido al contenido polifenólico, y están recubiertas de una pulpa blanca dulce (Ver Figura 2). La pulpa es aromática, compuesta de células parenquimatosas que contienen una savia rica en carbohidratos (Grivetti & Shapiro, 2009).



Figura 2. Semillas de cacao.
Fuente: (Greenwood-Haigh, 2010).
Elaboración: El Autor.

La composición de los granos secos no fermentados del cacao del oeste africano (*Forastero*) se exponen en la Tabla 3.

Tabla 3. Composición de granos secos de cacao.

Nutrientes	%
Grasa	53
Carbohidratos	11.98
Agua	3.65
Cenizas	2.63
Fibra	2.09
Proteína	1.50
Polifenoles	7.54

Fuente: Afoakwa (2010).
Elaborado por: El Autor.

El cacao en polvo contiene 18-19 % de proteína, 20-25 % de grasa, 45-55 % de carbohidratos y 5-6 % de cenizas, como el calcio (100-180 mg), fósforo (750-1000 mg), hierro (10-15 mg), magnesio (500-600 mg), cobre (4-6 mg), zinc (5-10 mg), potasio (1500-2000 mg), manganeso (3-5 mg) y selenio (15-20 µg). Es una fuente sustentable de vitaminas como: vitamina A (10-20 µg equivalentes de Retinol), vitamina E (0.1-0.2 mg equivalentes de Alfa-Tocoferol), vitamina K1 (2.5 µg), vitamina B1 (0.1 mg), vitamina B2 (0.2-0.3 mg), Niacina (2-4 mg), vitamina B6 (0.1-0.2 mg), Folato (32-40 mcg) y Pantotenato (0.2-0.4 mg) (Grivetti & Shapiro, 2009).

1.2.1. Compuestos antioxidantes del cacao.

Velioglu, Mazza, Gao & Oomah (1998) definen a los antioxidantes como “compuestos que retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación”, por lo tanto el interés en el ámbito nutricional ha avanzado en los últimos años, de acuerdo a diversos estudios donde se resalta los beneficios aportados a la salud humana, como, efectos antioxidantes, antiinflamatorios, prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares, entre otras (Martínez-Valverde, Periago & Ros, 2000; Ortega et al., 2008).

Los polifenoles de las semillas del cacao son micronutrientes que actúan como antioxidantes en el cuerpo humano (Fang & Bhandari, 2011). El cacao posee un alto contenido de polifenoles, de los cuales se diferencian tres grupos: catequinas, antocianinas y proantocianidinas. Sus productos derivados, como el polvo de cacao, son ricos en flavonoides (compuestos polifenólicos), como flavan-3-ol o flavanoles e incluyen las formas monoméricas y oligoméricas denominadas como procianidinas (Afoakwa, 2010; Lecumberri et al., 2007; Ortega et al., 2008; Vinson, Proch & Zubik, 1999).

La actividad antioxidante del cacao está relacionada con el contenido de catequina y procianidina. El chocolate negro contiene una concentración media de 0.535 mg/g y la cantidad flavonoides es más alta que en vino tinto y té negro (Wan et al., 2001). Lee, Kim, Lee & Lee (2003) confirman esta conclusión al determinar los niveles de fenoles totales y flavonoides en el cacao, 611 mg EAG y 564 mg de equivalentes de epicatequina por porción respectivamente, los cuales son mayores en comparación al té negro, té verde y vino tinto y utilizando los métodos con radicales ABTS y DPPH, el cacao presenta 1128 y 836 mg de VCEAC por porción, respectivamente.

Ortega et al. (2008) determinan el contenido total de polifenoles en las semillas (259.9), licor (257.5) y polvo de cacao (123.9), valores expresados en mg de catequina/g de extracto de cacao liofilizado. El total de flavan-3-ol, 163.5 en las semillas, 168.8 en el licor y 49.53 en el polvo de cacao, expresados igualmente en mg de catequina/g de extracto de cacao liofilizado. Otros ensayos, usando el análisis HPLC-DAD, indican la cantidad de epicatequina y catequina en el polvo de cacao, 56.24 mg/g de extracto de cacao fraccionado y 39.81 mg/g extracto de cacao fraccionado, respectivamente (Abbe Maleyki & Ismail, 2008).

1.3. Extracción de antioxidantes.

La extracción de los compuestos antioxidantes presentes en fuentes naturales, por lo general, se lleva a cabo por medio de la extracción con disolventes (Spigno, Tramelli & De Faveri, 2006). El método de extracción de antioxidantes aplicado afecta el contenido total de compuestos fenólicos, por lo que diversos factores como condiciones experimentales, métodos de preparación de muestras, entre otras, deben ser considerados en la evaluación de la actividad antioxidante (Lee et al., 2003).

El método de extracción debe proporcionar el máximo rendimiento de sustancias con potencial antioxidante y debe evitar su modificación química. Sustancias como agua, mezclas acuosas de etanol, metanol y acetona se usan comúnmente en matrices vegetales (Spigno et al., 2006; Turkmen, Sari & Sedat Velioglu, 2006).

Las variables investigadas en varios trabajos han sido: pretratamiento de la muestra, como reducción del tamaño de partícula, relación muestra/solvente, tipo de disolvente, tiempo y temperatura de extracción. De acuerdo a Sultana, Anwar & Ashraf (2009) y Alothman, Bhat & Karim (2009) la naturaleza del disolvente es una pieza clave para el rendimiento de extracción, debido a que los diferentes compuestos antioxidantes presentan características y polaridades variadas que pueden o no ser solubles en un disolvente particular, por lo tanto habrá un mayor rendimiento de extracción con el aumento de la polaridad del disolvente utilizado (Turkmen et al., 2006). Por lo general, se utilizan solventes polares para la

recuperación de polifenoles de frutas y plantas (Sultana et al., 2009).

Spigno et al. (2006) recomiendan usar los disolventes alcohólicos por su capacidad para extraer compuestos fenólicos de fuentes naturales y proveen mayor rendimiento. Diferentes concentraciones de metanol, etanol, acetona, propanol y acetato de etilo, con agua, son usados para la extracción de fenoles.

Othman, Ismail, Ghani & Adenan (2007) concluyen que el metanol es el mejor disolvente para extraer antioxidantes en subproductos de cacao. Aunque otras investigaciones mencionan que la extracción con metanol y etanol no presentan diferencias amplias y que los disolventes menos polares son adecuados para la extracción de fenoles lipofílicos, debido a la amplia gama de fenoles que las mezclas etanol/agua pueden disolver y también por la aceptabilidad para los modelos de consumo humano, por lo tanto el etanol es el disolvente más adecuado para usar en la industria alimentaria (Allothman et al., 2009; Lapornik, Prošek & Wondra, 2005).

Naczka & Shahidi (2006) mencionan que la recuperación de los polifenoles de la materia prima vegetal también está influenciada por otros factores, aunque no dependen tanto como el tipo de solvente. Por ejemplo, la reducción del tamaño de partícula, permite el aumento del área superficial disponible para la transferencia de masa, por lo que el rendimiento de extracción es mayor. Otro factor a tomar en cuenta es el tiempo de extracción, los períodos de extracción investigados varían de un minuto a 24 horas. Los tiempos de extracción más largos aumentan la probabilidad de oxidación de los compuestos fenólicos, por ejemplo, un tiempo de extracción mayor a 20 horas, presenta una reducción de la cantidad de fenoles extraídos, aunque aún se encuentra en investigación, se prefiere extraer con temperaturas más altas y tiempos cortos, desde el punto de vista energético (Naczka & Shahidi, 2006; Spigno et al., 2006).

1.4. Tecnología del secado por aspersión.

El secado por pulverización se estableció como un método rápido para secar compuestos que mostraban niveles inaceptables de degradación utilizando procesos clásicos de secado. Esta nueva tecnología es viable, sencilla y económica (Gharsallaoui, Roudaut, Chambin, Voilley & Saurel, 2007; Gouin, 2004).

Maa, Nguyen & Hsu (1997) definen el secado por pulverización como “un proceso de deshidratación que utiliza calor de una corriente de gas caliente para evaporar gotas dispersas creadas por atomización de una alimentación líquida continua”.

El gas utilizado, por lo general es aire, y en pocos casos se usa un gas inerte (nitrógeno). El

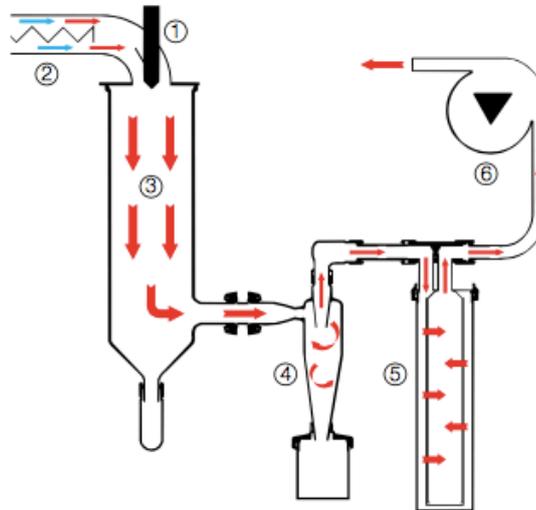
líquido inicial que alimenta el pulverizador puede ser una solución, suspensión o emulsión. El secado por pulverización permite obtener un polvo muy fino (10-50 μm) o partículas de mayor tamaño (2-3 mm) (Gharsallaoui et al., 2007).

Durante mucho años, el proceso de secado por aspersion se ha utilizado en la industria química y alimentaria para preparar varios pigmentos secos o la conocida leche en polvo a partir de soluciones, lo cual asegura la estabilidad microbiológica de los productos, evitar el riesgo de degradaciones químicas o biológicas, reducir los costos de almacenamiento y transporte (Gharsallaoui et al., 2007; Maa et al., 1997).

La tecnología de secado por aspersion se desarrolla en cuatro etapas (Gharsallaoui et al., 2007):

- Atomización: En esta etapa se busca crear una superficie máxima de transferencia de calor entre el aire seco y el líquido para optimizar las transferencias de calor y masa. Se puede realizar por presión o por energía centrífuga. Los atomizadores usados incluyen atomizador neumático, boquilla de presión, configuraciones de disco giratorio, dos boquillas de fluido o boquilla sónica, la elección dependerá de la naturaleza y viscosidad de la solución y de las características del producto deseado.
- Contacto del aire caliente: Este es el inicio de la etapa de secado, el cual puede ser con la corriente de aire en paralelo o en contracorriente. En el primero, el líquido es pulverizado en la misma dirección que el flujo de aire caliente a través del cilindro de pulverización, esto permitirá que el producto seco no esté en contacto con altas temperaturas. En el segundo, el líquido es pulverizado en la dirección opuesta al flujo de aire caliente, por lo tanto, el producto seco se expondrá a altas temperaturas.
- Evaporación del agua de las gotitas: En este momento se establecen balances de temperatura y presión parcial de vapor entre la fase líquida y gaseosa. La transferencia de calor provoca el aumento de la temperatura de las gotitas hasta un valor constante. Luego, la evaporación del agua de las gotitas se lleva a cabo a temperatura constante y presión parcial de vapor de agua. Finalmente, el contenido de agua de las gotitas alcanza un valor crítico y se crea una corteza seca en la superficie de la gotita y la velocidad de secado disminuye.
- Separación de aire seco con el producto. Esta operación se realiza a través de un ciclón colocado fuera del secador, donde las partículas de mayor tamaño se recuperan en la base de la cámara de secado mientras que las más finas atraviesan el ciclón, para separarse del aire húmedo.

En la Figura 3 se muestra el diagrama de proceso del secado por atomización.



- ① *Tobera de dos componentes, con sistema de depresión, para la dispersión de la solución en gotas finas*
- ② *Calefacción eléctrica del desecante*
- ③ *Cilindro de pulverización para secar las gotitas a partículas sólidas*
- ④ *Separación de las partículas en el ciclón*
- ⑤ *Filtro para limpiar el aire de partículas finas*
- ⑥ *Aspirador para la producción de corriente*

Figura 3. Diagrama del proceso de secado por atomización.
Fuente: Manual de Operación de Mini spray Dryer BUCHI B-290.
Elaboración: El Autor.

El modelado matemático del proceso de secado por aspersión es complicado debido al gran número de parámetros que intervienen durante el proceso como las gotitas que presentan colisión, separaciones, aglomeración, transferencia de calor y masa entre las gotitas y el gas caliente, entre otras (Negiz, Lagergren & Cinar, 1995).

1.5. **Microencapsulación de antioxidantes.**

Lupo, Maestro, Porras, Gutiérrez & González (2014) describen a la técnica de microencapsulación como “un proceso en el que pequeñas partículas o gotitas están rodeadas por un revestimiento homogéneo o heterogéneo, formando perlas o cápsulas con diversas aplicaciones”. La microencapsulación ha sido ampliamente utilizada para proteger los ingredientes alimentarios contra el deterioro, las pérdidas volátiles o la interacción con otros ingredientes alimentarios, lo cual ha permitido la viabilidad en el uso de la industria,

dando estabilidad y control adecuado en la liberación de los componentes encapsulados, obteniendo el máximo beneficio al consumidor (Fang & Bhandari, 2011; Gharsallaoui et al., 2007; Gouin, 2004).

Aunque se han desarrollado diversos tipos de técnicas de microencapsulación, el secado por pulverización ha sido el proceso más común en ingredientes alimenticios susceptibles de deterioro por agentes externos. En la industria alimenticia se aplica este proceso a partir de formulaciones acuosas junto con el material de envoltura, que incluyen goma de acacia, maltodextrinas, almidón modificado y mezclas de los mismos. El secado inmediato de la mezcla acuosa permite la formación de un sistema de matriz, en donde, el polímero forma una red tridimensional que contiene el ingrediente de interés. Esta técnica también permite enmascarar o preservar aromas y sabores, proteger los alimentos de las pérdidas nutricionales o para agregar materiales nutritivos a los alimentos después del procesamiento (Fang & Bhandari, 2011; Gouin, 2004; Tonon, Brabet & Hubinger, 2010).

Según Shahidi & Han (1993), el proceso de microencapsulación implica cuatro etapas básicas, las cuales se resumen a continuación:

- Preparación de la dispersión o emulsión: El paso inicial es la selección de un agente de encapsulación, el cual, debe poseer buenas propiedades emulsionantes, formador de películas, baja viscosidad con altos niveles de sólidos, baja higroscopicidad, liberar los ingredientes recubiertos en el producto alimenticio acabado y proporcionar una buena protección a los ingredientes encapsulados.
- Homogeneización de la dispersión: La dispersión calentada se homogeniza antes del secado por pulverización lo cual es ventajoso para permitir un secado eficaz.
- Atomización: Dos tipos de atomizadores se usan en la industria, la boquilla de pulverización de un solo fluido de alta presión y la rueda centrífuga. Se debe tomar en cuenta que los parámetros de atomización tienen un efecto significativo sobre la distribución del tamaño de partícula del producto final. También se menciona que las partículas pequeñas son a menudo difíciles de dispersar sobre la superficie del líquido.
- Deshidratación de las partículas atomizadas: A medida que las partículas atomizadas caen a través del medio gaseoso, asumen una forma esférica, con el producto encerrado en la fase acuosa. La evaporación instantánea del agua de revestimiento mantiene la temperatura del núcleo por debajo de 100 ° C, por lo tanto, este método permite manejar varios ingredientes termolábiles.

El secado por aspersión resulta útil para la encapsulación de ingredientes alimenticios sensibles al calor, debido al proceso de secado rápido, en donde el núcleo se calienta a temperaturas inferiores a 100 °C. Esta técnica ha resultado satisfactoria para la encapsulación de ingredientes ricos en compuestos fenólicos, por lo que se espera la generación de una nueva materia prima para la industria alimentaria (Berté, Beux, Spada, Salvador & Hoffmann-Ribani, 2011; Fang & Bhandari, 2011).

En la Tabla 4 se presentan resultados de microencapsulación de antioxidantes usando la tecnología de secado por aspersión.

Tabla 4. Investigaciones sobre microencapsulación de antioxidantes.

Materia prima	Variables investigadas	Resultados y Condiciones óptimas	Referencias
Jugo de Gac (<i>Momordica cochinchinensis</i>)	Temperatura de entrada: 120, 140, 160, 180 y 200 °C; Adición de maltodextrina: (10, 20 y 30 %).	Temperatura: 120 °C; Adición de maltodextrina: 10 %; Carotenoides Totales: 0.14 mM ET/g de polvo.	(Kha, Nguyen & Roach, 2010)
Subproducto de Mango (<i>Mangifera indica L.</i>)	Temperatura de entrada 120-160 °C; Flujo de alimentación 2.5-12.5 mL/min; Concentración de sólidos 2, 6 y 10% (p/v); Flujo de gas: 246-473 L gas/hora.	Temperatura:120°C; Flujo de gas: 426 L gas/hora; Flujo de alimentación: 2.5 mL/min; Concentración de sólidos; 2% (p/v). Capacidad antioxidante: 147.47, 260.42, 151.70 µM ET/g atomizado para DPPH, ABTS y FRAP respectivamente. Fenoles Totales: 2900.95 mg EAG/100g atomizado.	(Macas Berrezueta, 2017)
Residuos de Cacao	Temperatura de entrada: 150, 160 y 170 °C; Concentración de maltodextrina: 5, 7.5 and 10%; Flujo de alimentación: 2.5, 5, and 7.5 mL/min.	Temperatura de entrada: 170 °C; Concentración de maltodextrina: 5%; Flujo de alimentación 2.5 mL/min. Capacidad antioxidante: 299.55-502.59 µg ET/g de polvo.	(Gabbay Alves et al., 2017).
Concentrado de soya.	Temperatura de entrada: 80, 115 y 150 °C.	Temperatura: 80 y 115 °C. Fenoles totales 11.73 y 11.75 mg AG/g de polvo.	(Georgetti, Casagrande, Fernandes Souzaa, Pereira Oliveira & Vieira Fonseca, 2008).
Hojas de guayusa (<i>Ilex guayusa Loes.</i>)	Temperatura de entrada: 85 y 90 °C; Flujo de alimentación: 15 y 25%.	Temperatura de entrada: 85 °C; Flujo de alimentación: 25%. Capacidad antioxidante: 8.2 mg ET/g de atomizado.	(Godoy Alvarez, 2016)
Subproductos de guayaba (<i>Psidium guajava</i>).	Temperatura de entrada: 120-160 °C; Flujo de alimentación: 10-40 %; Flujo de gas: 20-40 mm de altura; Concentración de sólidos totales (goma arábica): 2, 6 y 10 %.	ABTS: 160 µMol ET/g atomizado; Temperatura: 120 °C, Flujo de gas: 20 mm de altura, flujo de alimentación: 40 %; Concentración de sólidos: 10 %. FRAP: 320 µMol ET/g atomizado; Temperatura: 160 °C; Flujo de gas: 40 mm de altura; Flujo de alimentación: 40 %; Concentración de sólidos: 2 %. DPPH: 142 µMol ET/g atomizado; Temperatura: 120 °C; Flujo de gas: 20 mm de altura; Flujo de bomba: 40 %; Concentración de sólidos: 10 %.	(Ramón Jaramillo, 2017)

Elaborado por: El Autor.

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

2.1. Lugar de desarrollo.

Esta investigación se desarrolló en la Universidad Técnica Particular de Loja, en el Laboratorio de Alimentos.

2.2. Materia prima.

La materia prima empleada fue cacao en polvo desengrasado (10-12 % de grasa) proporcionado por la empresa TULICORP S.A., ubicada en el sector Bellavista, en la ciudad de Guayaquil, Ecuador, y con un tamaño de partícula $\leq 350 \mu\text{m}$ (Ver Figura 4).



Figura 4. Cacao en polvo desengrasado.
Elaboración: El Autor.

2.3. Extracción de compuestos antioxidantes.

Se realizó por maceración dinámica en un tiempo de una hora y treinta minutos con agitación, utilizando una proporción de etanol:agua (50 %) a 40 °C, la relación muestra/solución de extracción fue de 1:20 (peso/volumen). La solución fue filtrada al vacío. La eliminación del etanol se efectuó por rotoevaporación a vacío en rotoevaporador (Hei-VAP Value "The Collegiate") a una temperatura de 40 °C (Ver Figura 5). El esquema de la extracción se muestra en el Anexo A.



Figura 5. Rotoevaporación de extractos.
Elaboración: El Autor.

2.4. Análisis de sólidos totales.

Se realizó basándose en la metodología descrita por la técnica AOAC 931.04. Este método gravimétrico fue realizado en una estufa; se pesaron aproximadamente 2 g del extracto acuoso, este fue colocado en una cápsula de porcelana y llevada a 100 °C ± 1 °C y mantenida hasta alcanzar peso constante. Para cada verificación de peso se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron nuevamente. El resultado se obtuvo por diferencia de pesos, como lo muestra la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Sólidos Totales} = 100 - \left(\frac{\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \right) \times 100$$

El análisis permitió ajustar con el encapsulante (maltodextrina) la concentración de sólidos en solución acuosa (5, 7.5 y 10 %, peso/volumen).

2.5. Atomización de los antioxidantes del cacao.

Para realizar la atomización se utilizó un Mini Spray Dryer BUCHI B-290 en donde se modificaron los parámetros de temperatura de entrada de aire (140, 155, 170 °C), flujo de alimentación (20, 30 y 40 %) y concentración de sólidos en solución acuosa (5, 7.5 y 10 %, peso/volumen) (Ver Figura 6). El flujo de aire fue de 60 mm/h en todos los tratamientos. El esquema de la atomización se muestra en el Anexo B.



Figura 6. Atomización en Mini Spray Dryer B-290.
Elaboración: El Autor.

2.6. Cuantificación de antioxidantes.

2.6.1. Método de Fenoles Totales.

Se basa en el método de Folin-Ciocalteu descrito por Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos & Byrne (2006). Se preparó una solución 0.25 N de Folin Ciocalteu y una solución 1N de carbonato de sodio. Para la preparación de muestras se colocaron 150 µL de muestra, a la que se le adicionaron 2400 µL de agua destilada y 150 µL de Folin Ciocalteu, esto se agitó por 2 minutos y se dejó reaccionar 3 minutos transcurrido este tiempo se

adicionó 300 μ L de carbonato de sodio se dejó reaccionar por 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 725 nm en un espectrofotómetro visible (JENWAY modelo 6405). Se realizó una curva de calibración con ácido gálico en concentración de 0-100 mg/L. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por cada gramo de atomizado (mg EAG/g atomizado). El procedimiento se detalla en Anexo C.

2.6.2. Método de DPPH.

Técnica descrita por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995), con algunas modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006). Se basa en la medición de eliminación de radicales libres de los compuestos antioxidantes con DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl). Para la preparación de la solución patrón (DPPH), se pesaron 24 mg y se disolvieron en 100 mL de metanol, esta solución se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su posterior uso. Para la preparación de la solución de trabajo se mezclaron 10 mL de la solución patrón con 45 mL de metanol, hasta obtener una absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades medida a una longitud de onda de 515 nm usando el espectrofotómetro. Para ajustar el espectrofotómetro a cero, se utilizó metanol. De cada una de las soluciones preparadas, tanto de la curva de calibración como de los extractos, se tomaron 150 μ L, se adicionaron 2850 μ L de la solución de trabajo DPPH. Se dejó reaccionar por 24 horas a temperatura ambiente y en oscuridad, y luego se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresaron en μ M ET/ g de atomizado. El procedimiento se detalla en Anexo D.

2.6.3. Método de ABTS.

Método descrito por Arnao, Cano & Acosta (2001) con ajustes descritos por Thaipong et al. (2006). Este método mide la capacidad de los antioxidantes naturales de eliminar radicales libres, se basa en la activación de metmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) para producir el radical catiónico, cuando hayan o no antioxidantes. Se preparó la solución patrón de ABTS mezclando dos soluciones preparadas como se indica a continuación:

Solución (A).- ABTS 7.4 mM: Se pesaron 101.5 mg de ABTS y se aforó a 25 mL con agua destilada. Solución (B).- Persulfato de potasio 2.6 mM: Se pesaron 17.57 mg de $K_2S_2O_8$ y se aforó a 25 mL con agua destilada.

La solución se dejó reaccionar durante 12 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad. La solución de trabajo se preparó mezclando 1 mL de solución de patrón con 60 mL de metanol hasta alcanzar una absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades medidas a 734 nm usando el espectrofotómetro. Para ajustar el espectrofotómetro a cero se utilizó metanol.

De cada una de las soluciones preparadas, tanto de la curva de calibración como de los extractos, se tomaron 150 μL , se adicionaron 2850 μL de la solución de trabajo de ABTS, se dejó reaccionar por 2 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron en $\mu\text{M ET/g}$ de atomizado. El procedimiento se detalla en Anexo E.

2.6.4. Método de FRAP.

Se utilizó el método de Benzie & Strain (1996) con modificaciones descritas por Thaipong et al. (2006). Es un método para evaluar la capacidad total de reducción de radicales libres. Para la preparación de la solución patrón se emplearon tres soluciones:

Solución (A).- Buffer acetato 300 mM/L: Se pesaron 4.8437 g de acetato de sodio y se diluyó en 25 mL de ácido acético glacial (10 mM), con un pH de 3.6.

Solución (B).- 2,4,6-tripiridin-s-triazina: Se pesaron 0.0312 g de TPTZ diluido en 10 mL de HCl (40 mM).

Solución (C).- Se pesaron 0.054 g de cloruro férrico hexahidratado diluido en 10 mL de metanol. La solución de trabajo se preparó mezclando las tres soluciones en las siguientes cantidades: 25 mL de buffer acetato, 2.5 mL de la solución de TPTZ y 2.5 mL de la solución de cloruro férrico hexahidratado y después se calentó a 37 °C. De cada una de las soluciones preparadas, tanto de la curva de calibración como de los extractos, se tomaron 150 μL , se adicionaron 2850 μL de la solución de trabajo FRAP, se dejó reaccionar por 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad, y se midió la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en $\mu\text{M ET/ g}$ de atomizado. El procedimiento se detalla en el Anexo F.

2.7. Análisis experimental.

Diseño factorial multinivel de 3x3 con tres repeticiones. Los parámetros de estudio fueron:

- Temperatura de entrada del aire (°C): 140, 155 y 170.
- Flujo de alimentación (%): 20, 30 y 40.
- Concentración de sólidos en solución (5, 7.5 y 10%, peso/volumen).

La influencia de cada parámetro se evaluó mediante un análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia de 0.05. Los análisis se realizarán en el software estadístico Statgraphics Versión XVI®.

CAPÍTULO III
RESULTADOS

3.1. Cuantificación de capacidad antioxidantes en el extracto acuoso.

En la Tabla 5 se indica la cuantificación de antioxidantes en el extracto acuoso. El rendimiento de extracción fue de 44 % \pm 2.17 (peso/peso).

Tabla 5. Cuantificación de antioxidantes en el extracto acuoso.

Método	Resultados
Fenoles Totales (mg EAG/ 100 g de cacao en polvo)	27342.31 \pm 95.95
DPPH (mg ET/g de cacao en polvo)	1931.80 \pm 6.93
ABTS (mg ET/g de cacao en polvo)	2646.21 \pm 3.44
FRAP (mg ET/g de cacao en polvo)	1558.14 \pm 2.29

Los valores se expresaron como media de 3 muestras \pm desviación estándar.
Elaboración: El Autor.

Ortega et al. (2008) determinan que el contenido total de polifenoles es de 123.9 mg de catequina/g de extracto de cacao en polvo liofilizado. El total de flavan-3-ol es de 49.53 mg de catequina/g de extracto de cacao en polvo liofilizado. Por otro lado, Abbe Maleyki & Ismail (2008), usando el análisis HPLC-DAD, indican la cantidad de epicatequina y catequina en el polvo de cacao, 56.24 mg/g de extracto de cacao fraccionado y 39.81 mg/g extracto de cacao fraccionado, respectivamente. En un estudio diferente, Miller et al. (2006) indican que el polvo de cacao de marcas comerciales contiene entre 4500 y 6000 mg EAG /100 g de producto. Belščak, Komes, Horžić, Kovačević Ganić & Karlović (2009) determinan el contenido total fenólico, el cual es de 1500-3200 mg EAG /g de cacao en polvo.

Los resultados son inferiores al de esta investigación, determinando que el contenido total de fenoles varía dependiendo del disolvente y del procedimiento utilizado para la extracción de los compuestos antioxidantes. La variedad de cacao, origen geográfico, grado de madurez y condiciones postcosecha, también son variables que inciden en el contenido de antioxidantes (Belščak et al., 2009; Spigno et al., 2006).

La cuantificación de antioxidantes por el método de ABTS es mayor al del método de DPPH y Lee et al. (2003) confirma lo mismo al presentar valores de 1128 y 836 mg VCEAC por porción, utilizando los métodos de ABTS y DPPH, respectivamente. La variación presentada se debe a que el método de ABTS mide los compuestos antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos, en cambio el método de DPPH, mide los lipofílicos (Arnao, 2000).

La cantidad de antioxidantes medido por el método de FRAP es menor a los demás métodos, lo cual puede deberse a que este método mide la capacidad de una muestra para reducir metales y es usado para cuantificar la capacidad antioxidante solo de los compuestos hidrofílicos (Pérez-Jiménez et al., 2008).

Según Martínez et al. (2012), los métodos para medir la capacidad antioxidante se diferencian en la forma de generar radicales libres, medir el punto final de la reacción de inhibición y la sensibilidad hacia las moléculas reductoras del producto. Por esta razón, recomiendan utilizar diferentes métodos, y así, obtener un análisis completo de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos.

3.2. Cuantificación de capacidad antioxidantes en el producto atomizado.

La composición total de sólidos en el extracto acuoso (sin etanol) fue de 2.23 %, por lo tanto, antes de atomizar, se ajustó la concentración de sólidos con maltodextrina. En la Tabla 6 se indican los resultados de la capacidad antioxidante del producto atomizado.

Tabla 6. Cuantificación de antioxidantes del producto atomizado.

Condiciones			Fenoles Totales (mg EAG/ 100 g de cacao en polvo)		DPPH (mg ET/ g de cacao en polvo)		ABTS (mg ET/ g de cacao en polvo)		FRAP (mg ET/ g de cacao en polvo)	
Temperatura de entrada (°C)	Flujo de alimentación (%)	Concentración de sólidos (%)	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
140	20	5	9930.90	56.66	1047.76	1.69	1103.57	0.54	668.70	1.47
155	20	5	9580.23	84.67	923.28	1.74	995.32	1.23	711.04	0.97
170	20	5	9512.36	31.29	1031.26	4.41	1067.03	0.67	673.44	0.90
140	30	5	10226.99	46.98	842.92	3.85	1042.11	0.64	657.90	0.98
155	30	5	9832.30	49.55	968.71	13.20	1083.38	1.69	612.38	1.49
170	30	5	9666.89	30.88	985.31	0.94	1209.89	0.56	587.52	0.77
140	40	5	9432.58	11.41	1000.71	2.44	1060.70	1.43	671.77	1.81
155	40	5	9917.33	19.72	910.38	1.71	1198.59	0.76	611.75	1.68
170	40	5	9812.20	29.29	1008.30	3.34	1090.58	1.89	695.18	1.56
140	20	7.5	6719.99	114.96	448.85	3.04	728.70	1.45	488.31	1.05
155	20	7.5	6697.18	15.04	547.14	3.26	738.66	2.98	397.46	2.51
170	20	7.5	7060.70	50.90	503.24	0.82	764.79	1.63	426.22	1.79
140	30	7.5	7009.18	37.30	565.00	2.63	709.14	0.02	433.98	1.14
155	30	7.5	6631.63	7.68	700.46	2.25	803.89	1.47	449.46	1.00
170	30	7.5	7477.88	54.06	689.20	2.51	825.40	0.38	453.48	2.47
140	40	7.5	7184.02	75.10	509.27	8.55	782.03	0.56	489.60	1.99
155	40	7.5	6636.00	40.34	541.96	1.53	749.02	0.36	464.71	1.01
170	40	7.5	6904.25	39.65	642.31	2.63	794.06	1.98	461.93	3.22
140	20	10	6015.69	74.32	478.20	0.81	614.46	0.89	316.52	1.75
155	20	10	5483.73	21.03	283.46	1.04	705.25	2.61	390.38	1.92
170	20	10	5725.24	73.59	432.73	2.84	409.64	1.00	369.05	1.36
140	30	10	5610.57	97.10	370.88	2.06	402.57	3.05	333.17	0.91
155	30	10	5782.66	166.46	460.14	1.84	423.46	2.01	361.47	2.81
170	30	10	6005.98	64.45	389.76	0.64	602.98	1.90	338.79	0.68
140	40	10	6138.13	139.33	376.68	1.89	582.38	0.50	348.61	1.75
155	40	10	5777.50	45.93	396.82	3.39	677.20	1.49	362.78	1.33
170	40	10	6478.04	86.54	330.79	0.57	658.57	1.16	384.01	0.87

Los valores se expresaron como media de 3 muestras.
Elaboración: El Autor.

3.2.1. Cuantificación de Fenoles Totales.

De acuerdo al ANOVA y al Diagrama de Pareto de cuantificación de Fenoles Totales (Ver Figura 7), se observa que la concentración de sólidos es un factor estadísticamente significativo (valor $P < 0.05$).

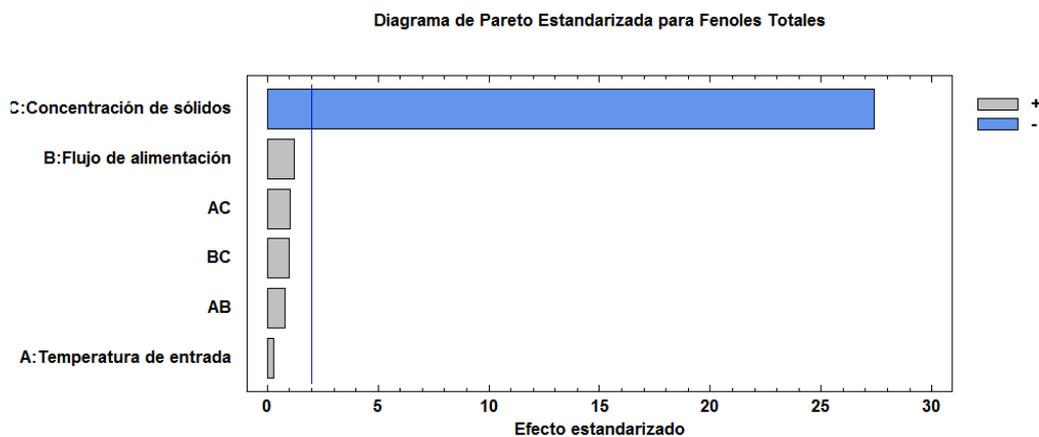


Figura 7. Diagrama de Pareto para Fenoles Totales.
Elaboración: El Autor.

La gráfica de efectos principales permite verificar que la concentración de sólidos afecta significativamente a la capacidad antioxidante de la muestra atomizada (Ver Figura 8).

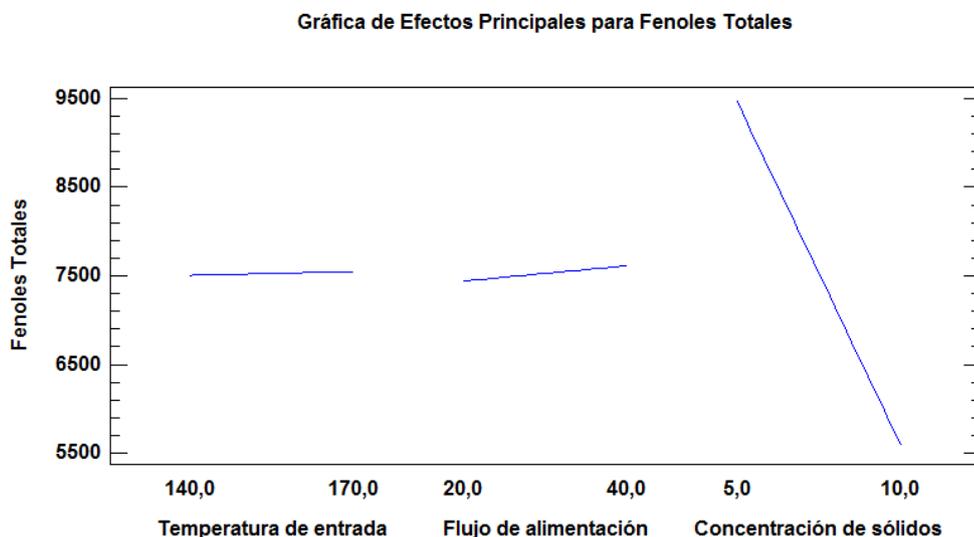


Figura 8. Gráfica de efectos principales para Fenoles Totales.
Elaboración: El Autor.

3.2.2. Cuantificación de antioxidantes por el Método DPPH.

De acuerdo al ANOVA y al Diagrama de Pareto de cuantificación de antioxidantes por este método (Ver Figura 9), se observa que la concentración de sólidos es un factor estadísticamente significativo (valor $P < 0.05$).

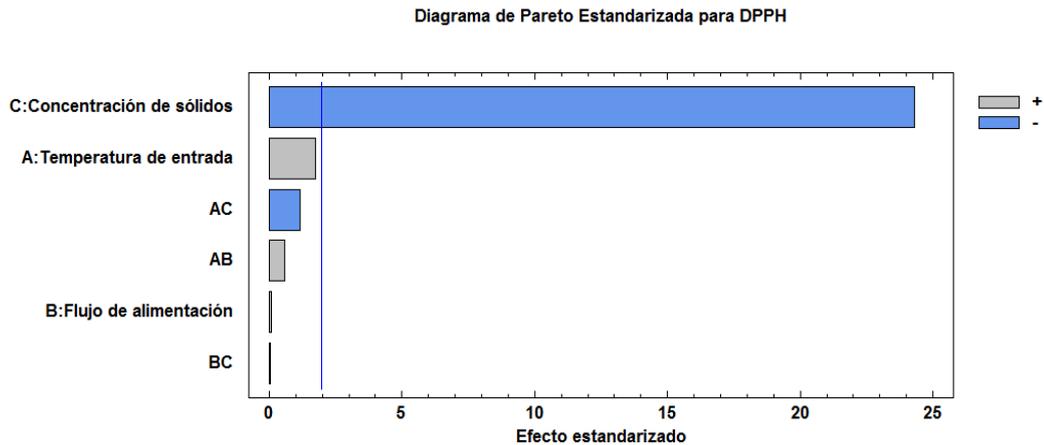


Figura 9. Diagrama de pareto para DPPH.
Elaboración: El Autor.

La gráfica de efectos principales permite verificar que la concentración de sólidos afecta significativamente a la capacidad antioxidante de la muestra atomizada (Ver Figura 10).

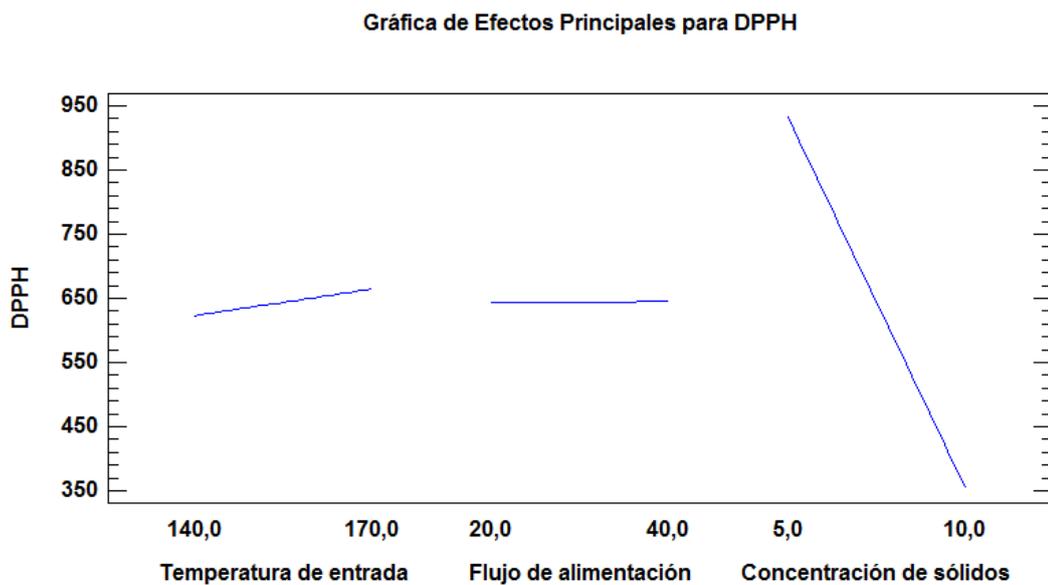


Figura 10. Gráfica de efectos principales para DPPH.
Elaboración: El Autor.

3.2.3. Cuantificación de antioxidantes por el Método ABTS.

De acuerdo al ANOVA y al Diagrama de Pareto de cuantificación de antioxidantes por este método (Ver Figura 11), se observa que la concentración de sólidos y el flujo de alimentación son factores estadísticamente significativos (valor $P < 0.05$).

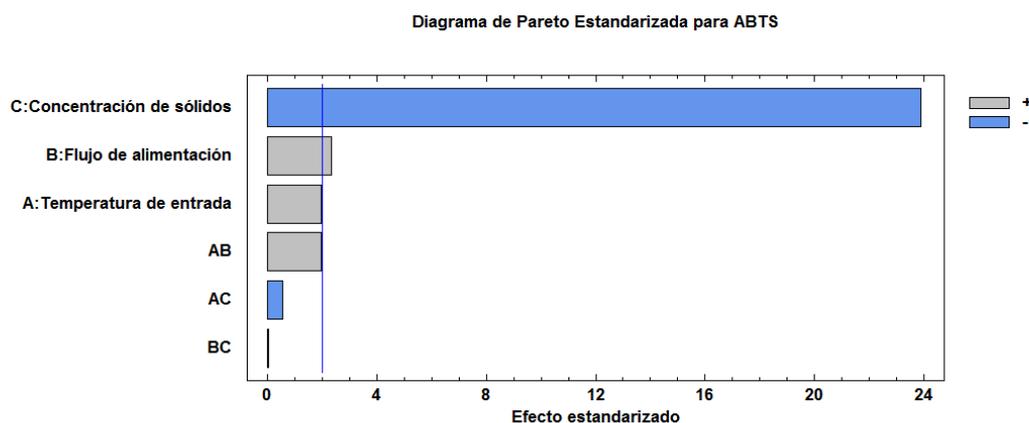


Figura 11. Diagrama de Pareto para ABTS.
Elaboración: El Autor.

Aunque el valor P del flujo de alimentación indica que es estadísticamente significativo, la gráfica de efectos principales (Ver Figura 12) permite observar que la concentración de sólidos afecta significativamente y en mayor proporción a la cantidad de antioxidantes presentes en la muestra atomizada, por lo tanto se estima que el único factor estadísticamente significativo es la concentración de sólidos.

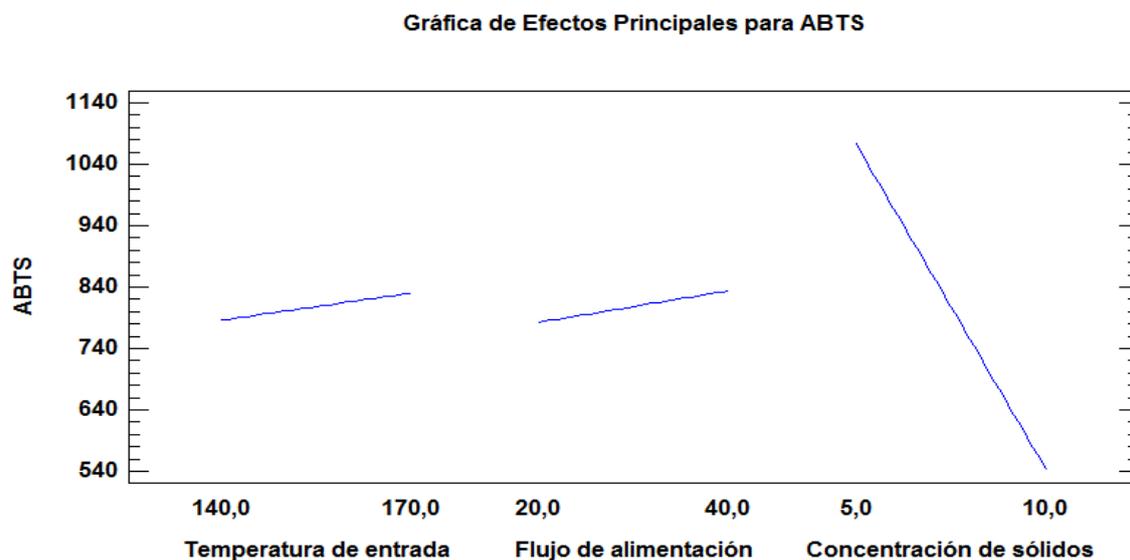


Figura 12. Gráfica de efectos principales para ABTS.
Elaboración: El Autor.

3.2.4. Cuantificación de antioxidantes por el Método FRAP.

De acuerdo al ANOVA y al Diagrama de Pareto de cuantificación de antioxidantes por este método (Ver Figura 13), se observa que la concentración de sólidos es un factor estadísticamente significativo (valor $P < 0.05$).

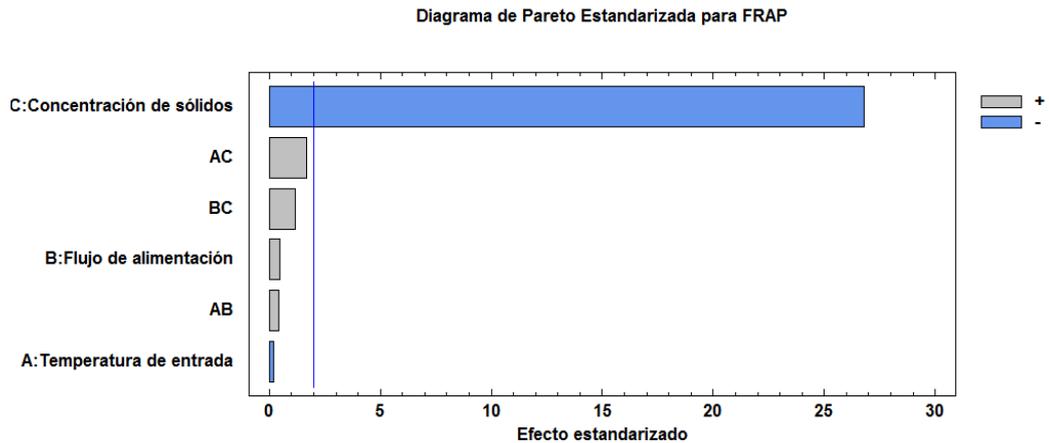


Figura 13. Diagrama de Pareto para FRAP.
Elaboración: El Autor.

La gráfica de efectos principales permite verificar que la concentración de sólidos afecta significativamente a la capacidad antioxidante de la muestra atomizada (Ver Figura 14).

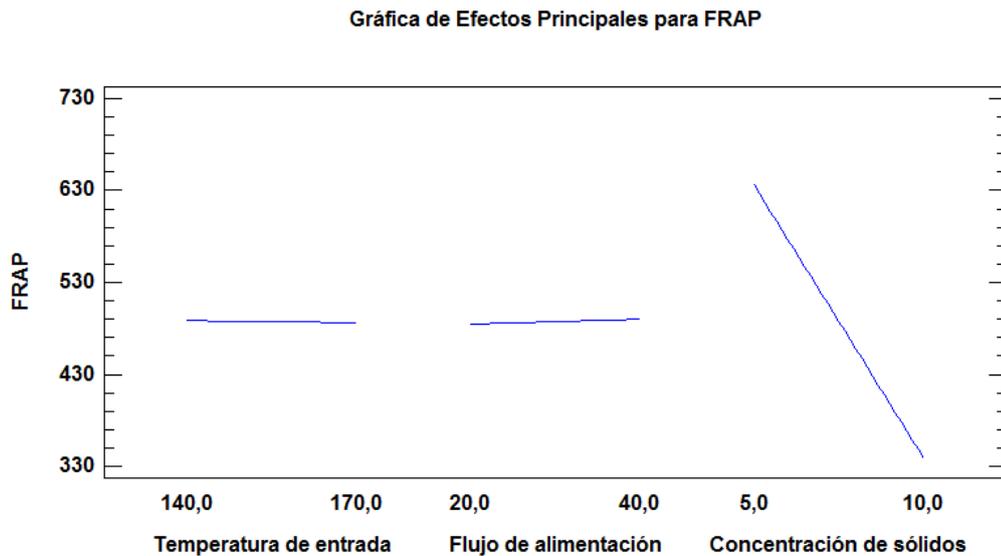


Figura 14. Gráfica de efectos principales para FRAP.
Elaboración: El Autor.

La concentración de sólidos ajustado con maltodextrina como encapsulante, ha sido el factor común que afecta significativamente la cuantificación de la capacidad antioxidante en los métodos realizados en el polvo obtenido.

Varios estudios concluyen que el aumento en la cantidad de portadores o encapsulantes, disminuyen el índice total de fenoles en el producto final. De acuerdo a Caliskan & Dirim (2013), el efecto significativo de la adición de maltodextrina en el contenido total fenólico, comienza con el extracto que contiene 15 % del encapsulante, es decir, sus resultados mostraron que el contenido total fenólico de las muestras disminuyó con el aumento de la

concentración de maltodextrina. Kha et al. (2010) concluyen que la concentración de maltodextrina y la temperatura de secado, afectaron significativamente la actividad antioxidante total en el producto atomizado de la fruta Gac (*Momordica cochinchinensis*) y que al aumentar la cantidad de maltodextrina observaron una pérdida de la capacidad antioxidante. Gabbay Alves et al. (2017) demuestran que la actividad antioxidante alcanzó su valor máximo a la temperatura más alta (160 °C) y la cantidad de maltodextrina más bajo (5 %). Otro estudio concluye que el contenido total fenólico de las muestras de *Sideritis stricta* disminuyó con el aumento de la concentración del material portador (Nadeem, Torun & Özdemir, 2011). Macas Berrezueta (2017) determinó, en la microencapsulación de antioxidantes de mango, que los factores estadísticamente significativos fueron el flujo de alimentación y la concentración de sólidos, concluyendo que al aumentar ambas variables la actividad antioxidante disminuye.

Al comparar con los resultados de esta investigación, se evidencia que mientras se aumenta la cantidad de maltodextrina, la disminución de la capacidad antioxidante en los métodos investigados se debe posiblemente a una fracción menor de antioxidantes o al efecto de dilución que se produce al aumentar la cantidad de maltodextrina (Caliskan & Dirim, 2013; Nadeem et al., 2011; Peng, Li, Guan & Zhao, 2013).

CONCLUSIONES

Finalizada la investigación, se presentan las siguientes conclusiones:

- Se consiguió la microencapsulación de los compuestos antioxidantes extraídos del polvo de cacao.
- Los extractos de cacao en polvo presentan los siguientes valores: Contenido de fenoles totales: 27342.31 ± 95.95 mg EAG/ g de muestra seca; capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP: 1931.80 ± 6.93 , 2646.21 ± 3.44 y 1558.14 ± 2.29 mg ET/ g de muestra seca, respectivamente.
- La concentración de maltodextrina (5 %) afecta significativamente a la capacidad antioxidante del polvo atomizado, por lo tanto, cuando la concentración de sólidos ajustado con maltodextrina es del 5 %, la fracción de compuestos antioxidantes es mayor en comparación con 7.5 % y 10 % de sólidos.
- El proceso de atomización disminuyó la capacidad antioxidante de los extractos.

RECOMENDACIONES

Finalizada la investigación, se recomienda:

- Estudiar la vida útil del producto atomizado, para determinar si el encapsulante protege a los antioxidantes de factores que pueden causar su deterioro y permitir la liberación controlada en condiciones deseadas.
- Utilizar el producto atomizado para incorporarlo a los alimentos obteniendo alimentos con posibles efectos funcionales.
- Comprobar la microencapsulación de los antioxidantes mediante un ensayo cromatográfico para determinar específicamente el tipo de fenoles presentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbe Maleyki, M. J., & Ismail, A. (2008). Antioxidant Properties of Cocoa Powder. *Journal of Food Biochemistry*, 34(1), 111-128.
- Afoakwa, E. O. (2010). *Chocolate Science and Technology*. Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785-788.
- Andrade Arango, J. (2016). Fruto de *Theobroma cacao* L. Medellín, Colombia. Recuperado de <https://pixabay.com/>
- ANECACAO. (2015). Exportaciones de cacao del Ecuador 2015. Guayaqui, Ecuador. Recuperado de <http://www.anecacao.com/>
- Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*, 11(11), 419-421.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2), 239-244.
- Beckett, S. T. (2008). *The Science of Chocolate*. Cambridge, United Kingdom: The Royal Society of Chemistry.
- Belščak, A., Komes, D., Horžić, D., Kovačević Ganić, K., & Karlović, D. (2009). Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. *Food Research International*, 42(5-6), 707-716.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Berté, K. A., Beux, M. R., Spada, P. K., Salvador, M., & Hoffmann-Ribani, R. (2011). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Yerba-Mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., Aquifoliaceae) Extract as Obtained by Spray Drying. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59(10), 5523-5527.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science & Technology*, 28(1), 25-30.
- Caliskan, G., & Dirim, S. N. (2013). The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 539-548.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129, 1139-1147.

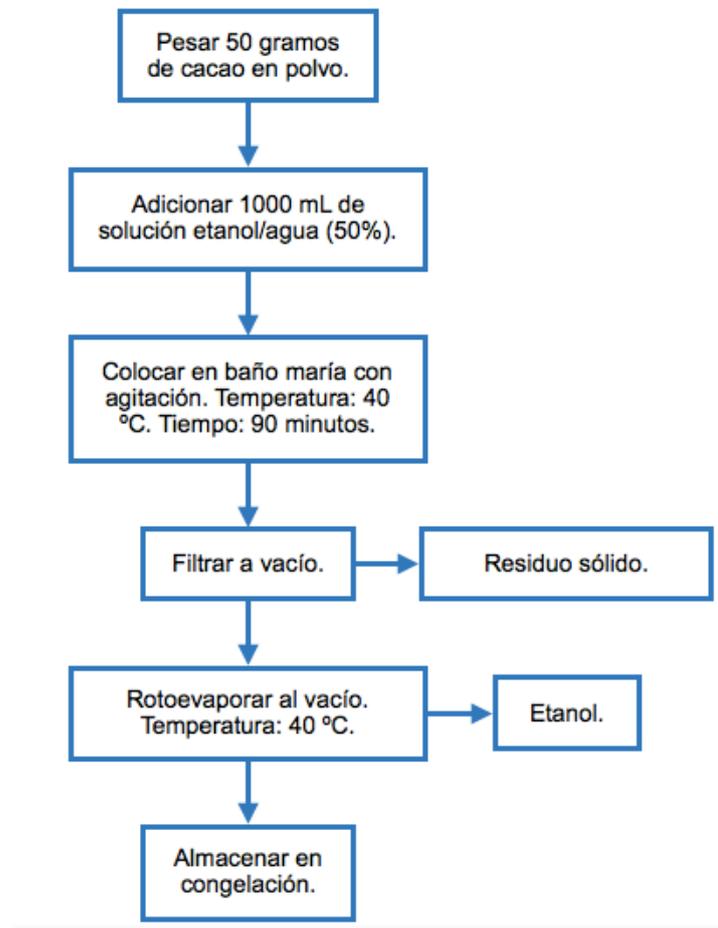
- Gabbay Alves, T. s. V., Silva da Costa, R., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Perego, P., Carréra Silva Júnior, J. O., Ribeiro Costa, R. M., & Converti, A. (2017). Microencapsulation of *Theobroma cacao* L. waste extract: optimization using response surface methodology. *Journal of Microencapsulation*, 34(2), 111-120.
- Georgetti, S. R., Casagrande, R., Fernandes Souzaa, C. R., Pereira Oliveira, W., & Vieira Fonseca, M. J. (2008). Spray drying of the soybean extract: Effects on chemical properties and antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1521-1527.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Godoy Alvarez, S. N. (2016). *Atomización de los antioxidantes de las hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes.)*. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Food Science & Technology*, 15(7-8), 330-347.
- Greenwood-Haigh, D. (2010). Semillas de cacao. Wakefield, United Kingdom. Recuperado de <https://pixabay.com/>
- Grivetti, L. E., & Shapiro, H.-Y. (2009). *Chocolate: History, Culture, and Heritage*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- ICCO. (2017). Cocoa Market Review. February 2017. Abiyán, Costa de Marfil. Recuperado de <http://www.icco.org/>
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering.*, 98(3), 385-392.
- Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.*, 71(2), 214-222.
- Lecumberri, E., Mateos, R., Izquierdo-Pulido, M., Rupérez, P., Goya, L., & Bravo, L. (2007). Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, 104(3), 948-954.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*, 51(25), 7292-7295.
- León, J. (2000). *Botánica de los Cultivos Tropicales*. San José, Costa Rica: IICA.

- Lupo, B., Maestro, A., Porras, M., Gutiérrez, J. M., & González, C. (2014). Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate Cocoa polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 38, 56-65.
- Maa, Y.-F., Nguyen, P.-A. T., & Hsu, S. W. (1997). Spray-Drying of Air-Liquid Interface Sensitive Recombinant Human Growth Hormone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(2), 152-159.
- Macas Berrezueta, G. L. (2017). *Optimización de las condiciones de atomización de antioxidantes obtenidos de los subproductos de mango (Mangifera indica L.)*. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135(3), 1520-1526.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-18.
- Miller, K. B., Stuart, D. A., Smith, N. L., Lee, C. Y., McHale, N. L., Flanagan, J. A., Ou, B., & Hurst, W. J. (2006). Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54(11), 4062-4068.
- Naczka, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- Nadeem, H. Ş., Torun, M., & Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *Food Science & Technology*, 44(7), 1626-1635.
- Negiz, A., Lagergren, E. S., & Cinar, A. (1995). Mathematical Models of Cocurrent Spray Drying. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 34(10), 3289-3302.
- Ortega, N., Romero, M. P., Macià, A., Reguant, J., Anglès, N., Morelló, J. R., & Motilva, M.-J. (2008). Obtention and Characterization of Phenolic Extracts from Different Cocoa Sources. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56(20), 9621-9627.
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N. A., & Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100(4), 1523.
- Peng, Z., Li, J., Guan, Y., & Zhao, G. (2013). Effect of carriers on physicochemical properties, antioxidant activities and biological components of spray-dried purple sweet potato flours. *Food Science & Technology*, 51(1), 348-355.

- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Ramón Jaramillo, V. C. (2017). *Optimización de las condiciones de atomización de antioxidantes obtenidos de los subproductos de guayaba (Psidium guajava)*. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2006). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 200-208.
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. r. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43(3), 907-914.
- Turkmen, N., Sari, F., & Sedat Velioglu, Y. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99(4), 835-841.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Vinson, J. A., Proch, J., & Zubik, L. (1999). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Cocoa, Dark Chocolate, and Milk Chocolate. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47(12), 4821-4824.
- Wan, Y., Vinson, J. A., Etherton, T. D., Proch, J., Lazarus, S. A., & Kris-Etherton, P. M. (2001). Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74(5), 596-602.

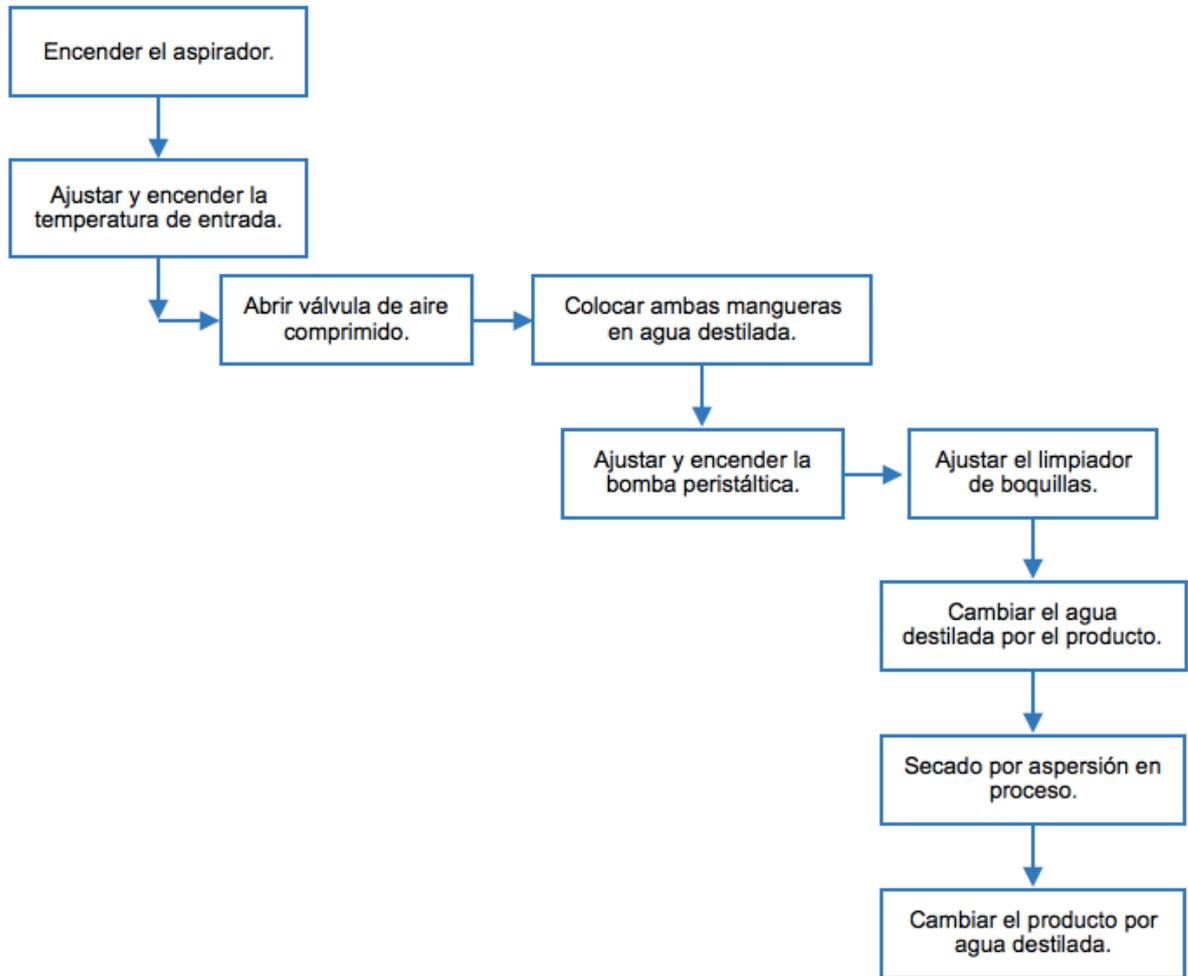
ANEXOS

ANEXO A. Extracción de compuestos antioxidantes.



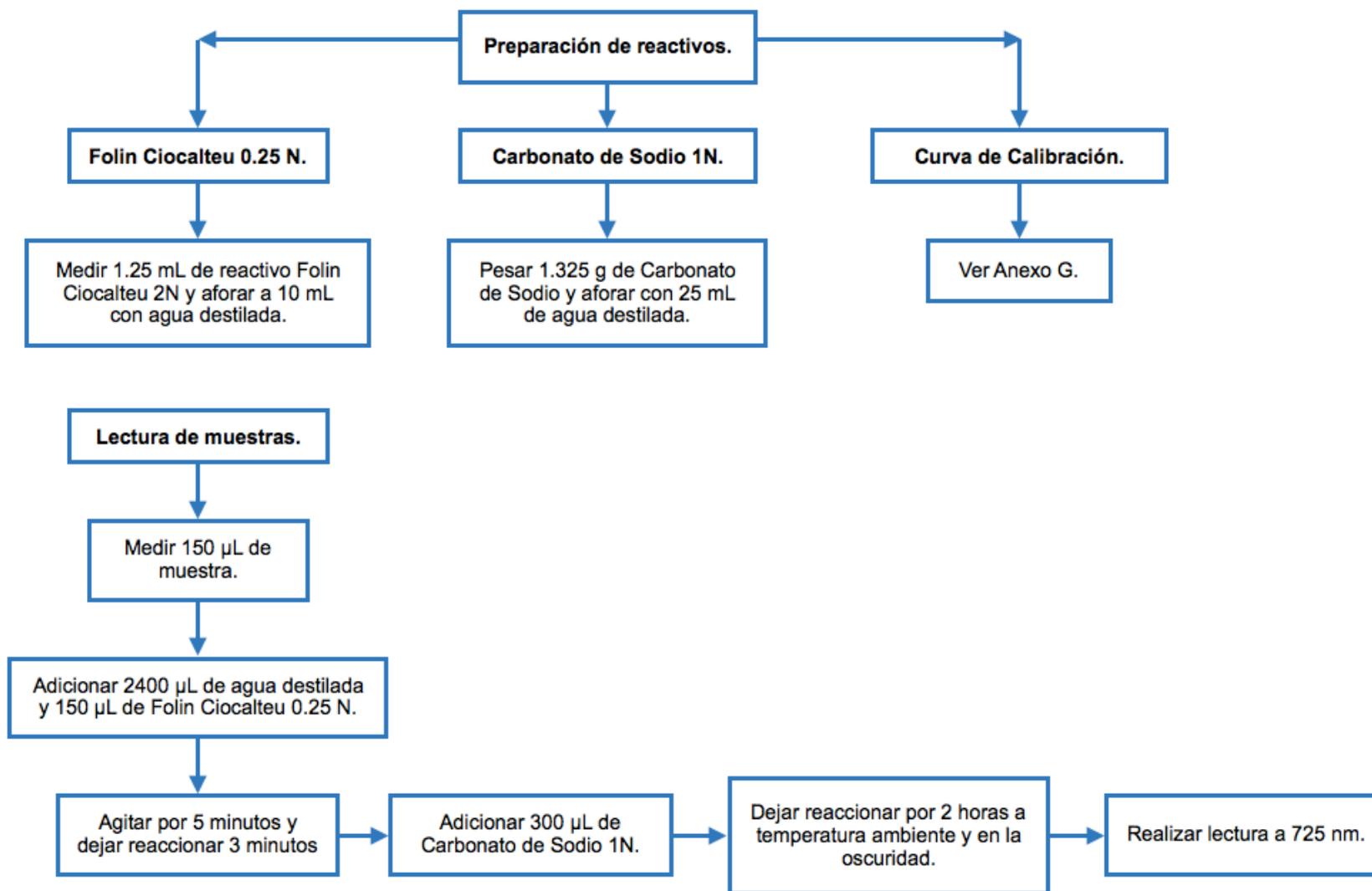
Elaboración: El Autor.

ANEXO B. Atomización de antioxidantes de cacao.



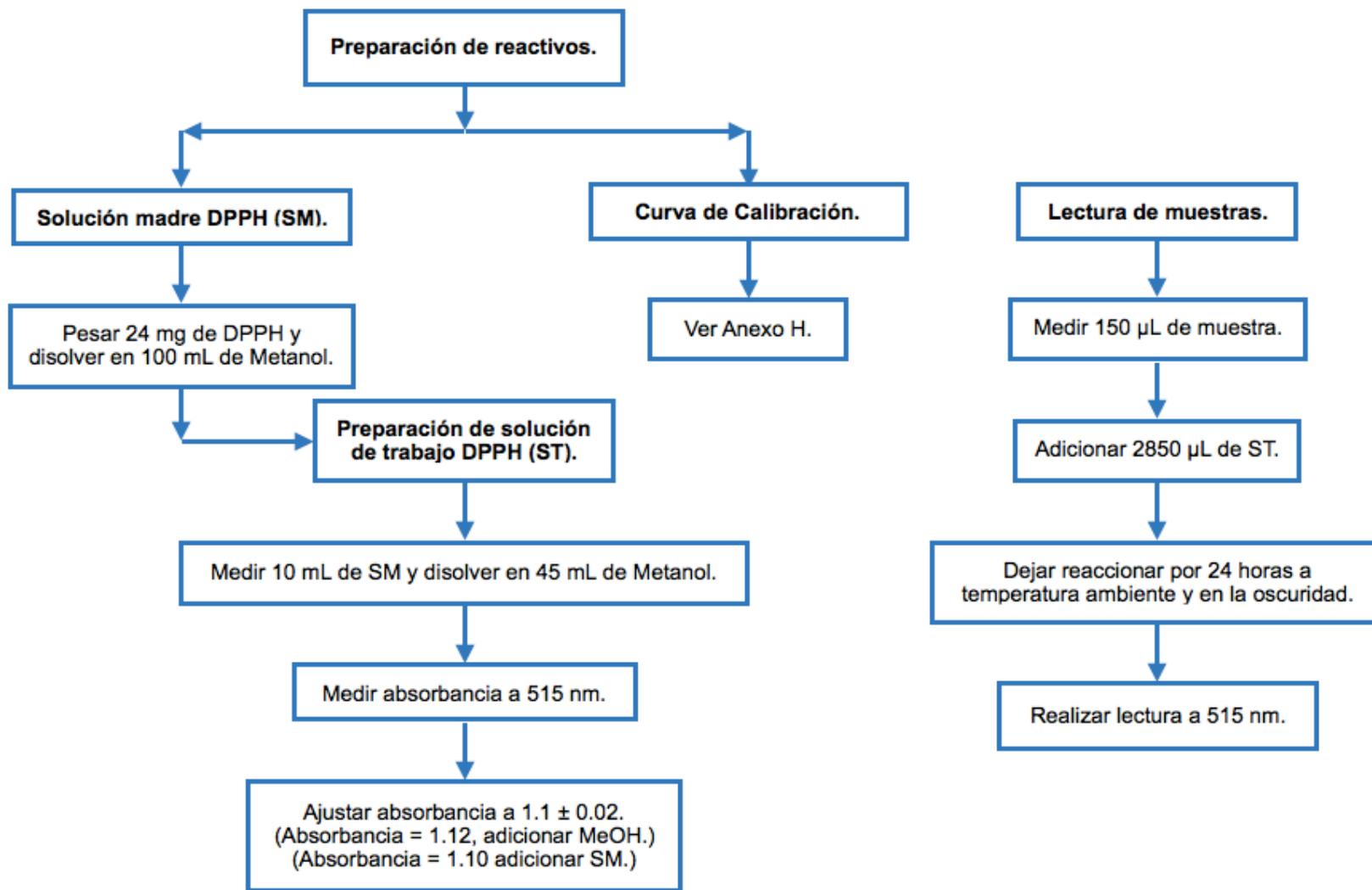
Elaboración: El Autor.

ANEXO C. Determinación de Fenoles Totales.



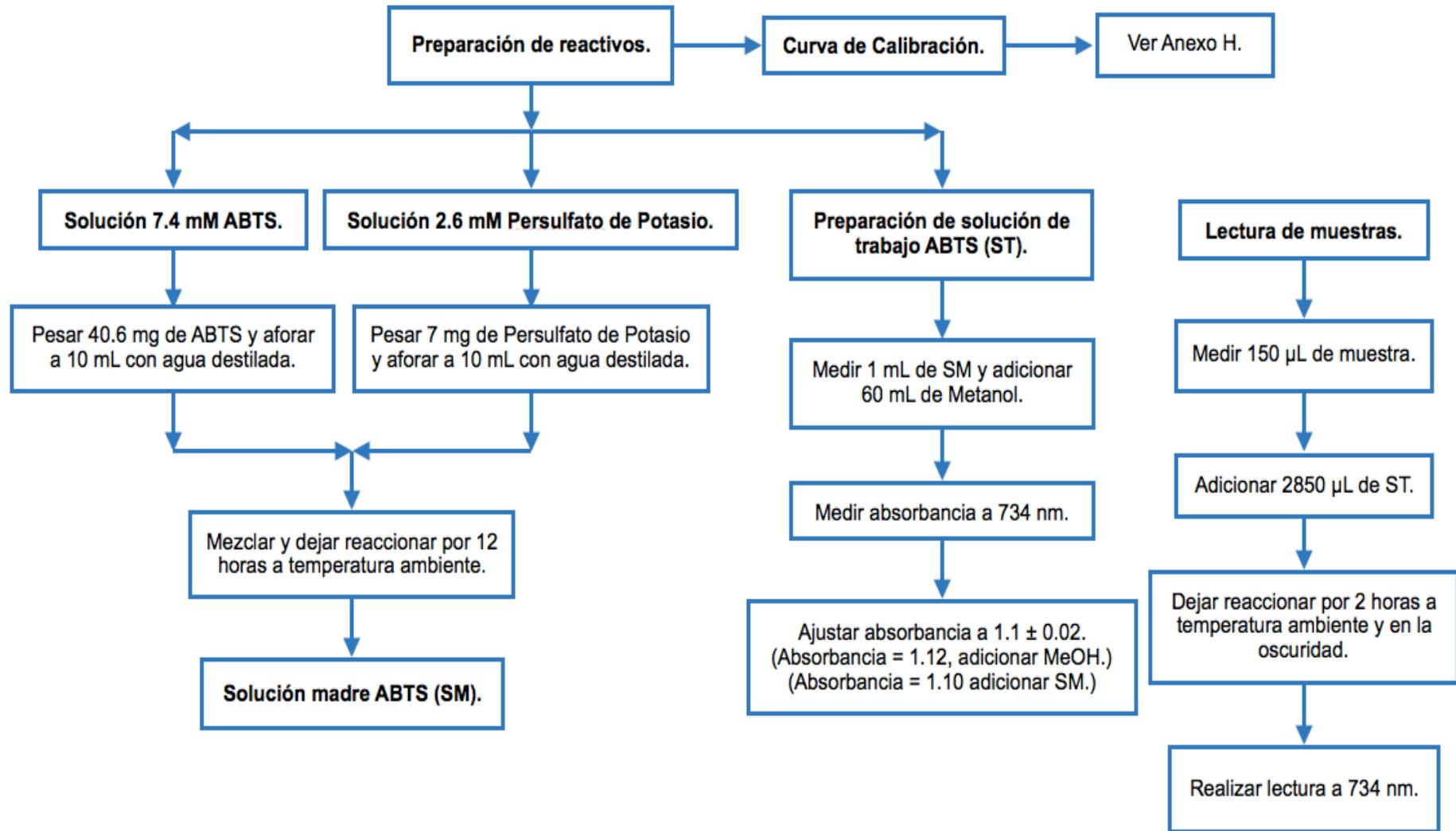
Elaboración: El Autor.

ANEXO D. Determinación de capacidad antioxidante. Método de DPPH.



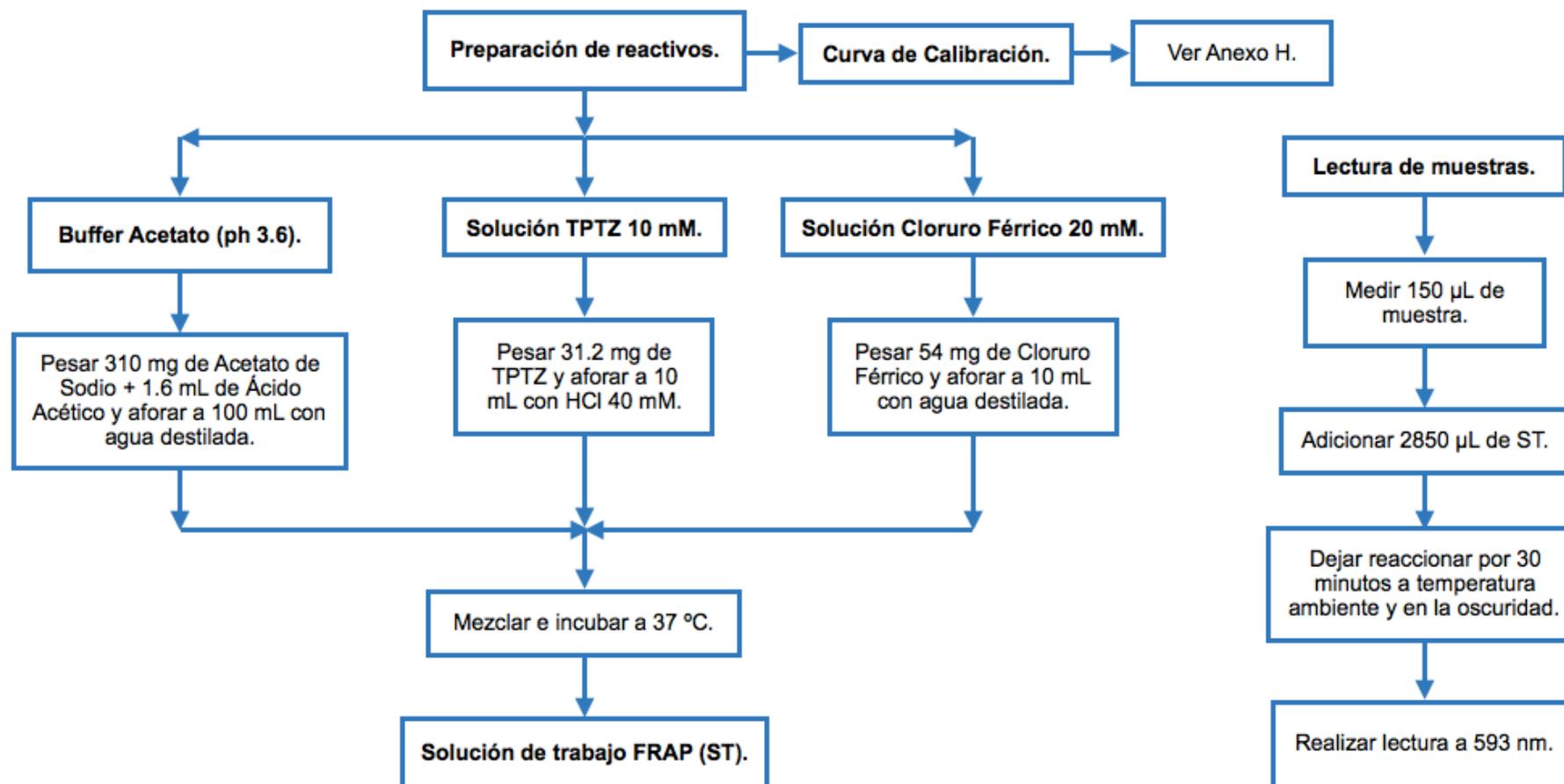
Elaboración: El Autor.

ANEXO E. Determinación de capacidad antioxidante. Método de ABTS.



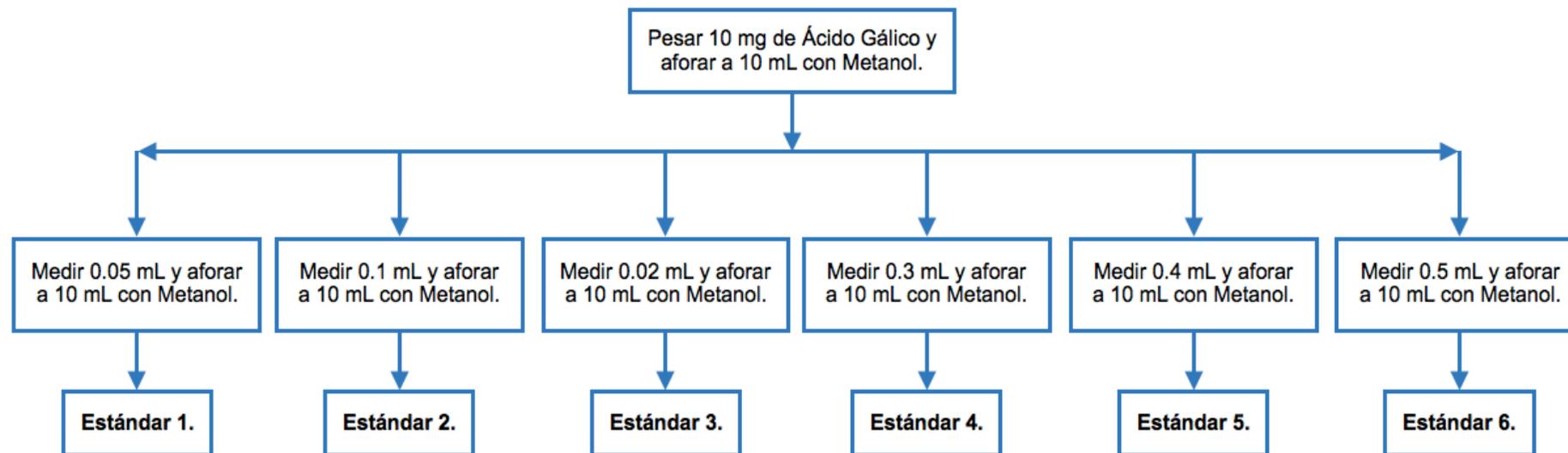
Elaboración: El Autor.

ANEXO F. Determinación de capacidad antioxidante. Método de FRAP.



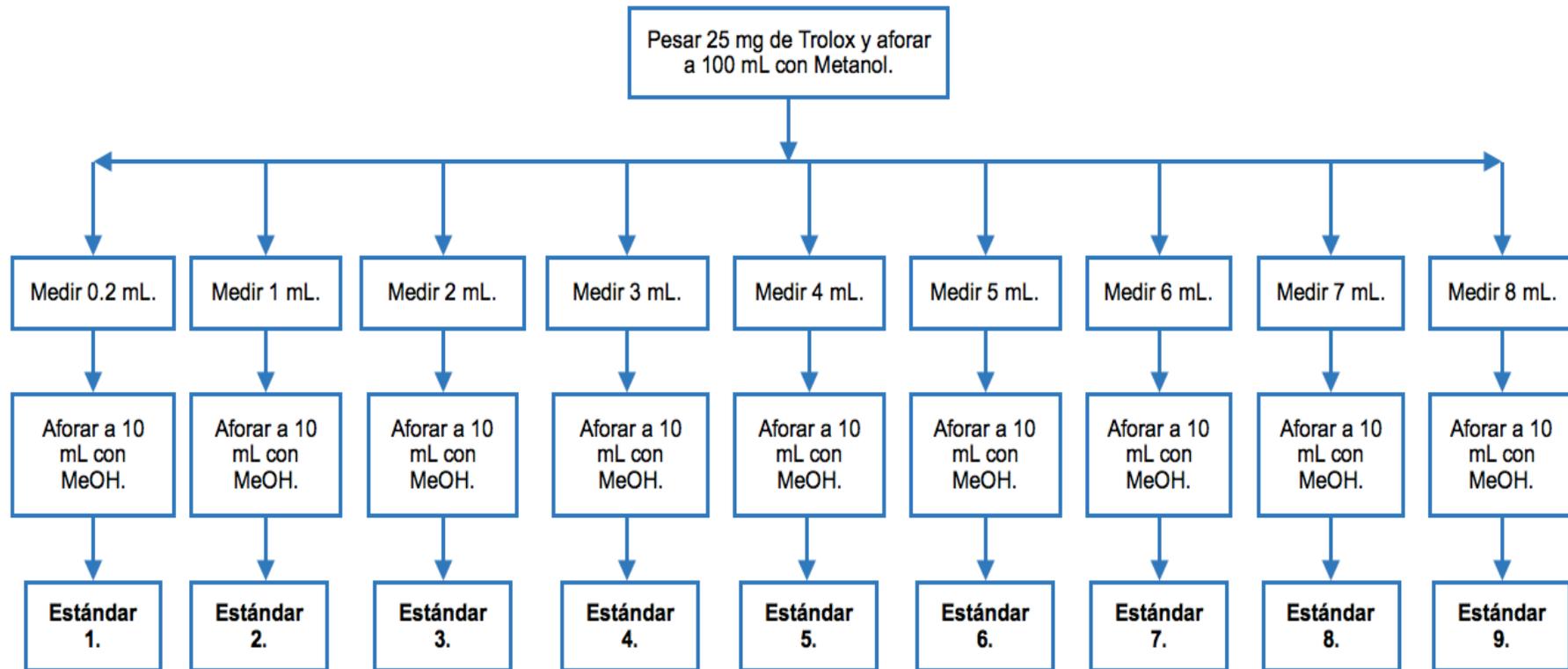
Elaboración: El Autor.

ANEXO G. Preparación de estándares para la curva de calibración del Método de Fenoles Totales.



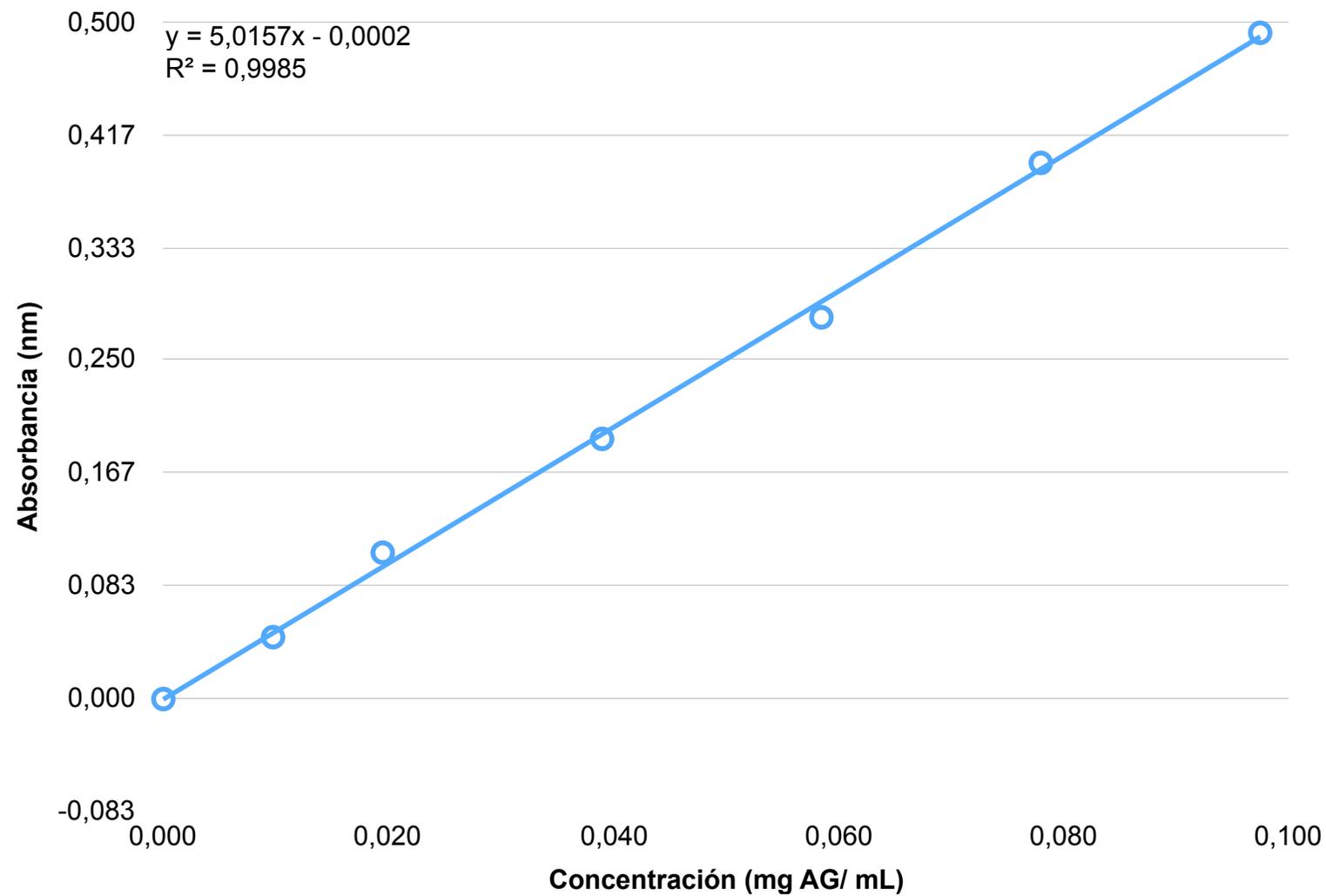
Elaboración: El Autor.

ANEXO H. Preparación de estándares para la curva de calibración del Método de DPPH, ABTS y FRAP.



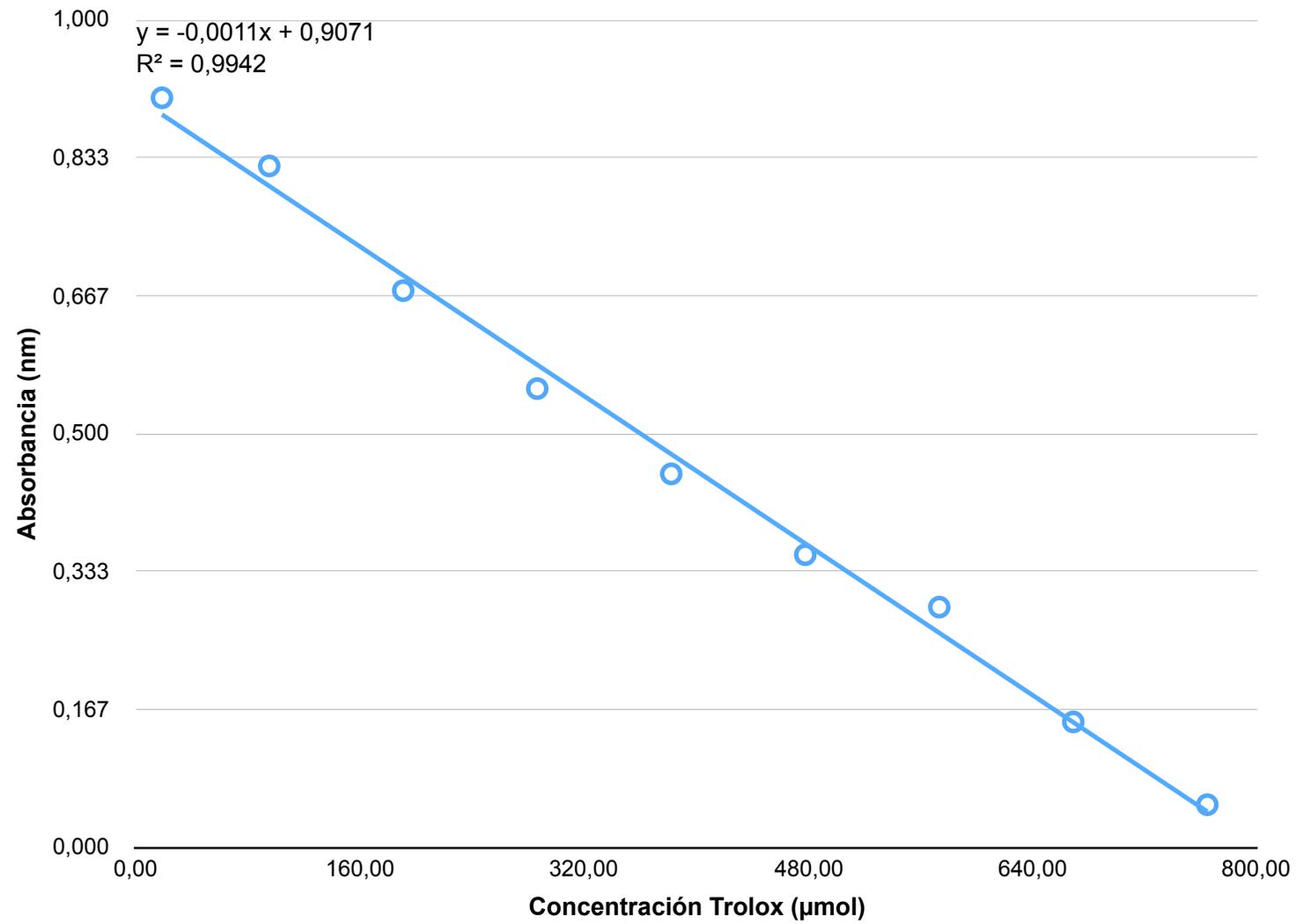
Elaboración: El Autor.

ANEXO I. Curva de calibración del Método de Fenoles Totales.



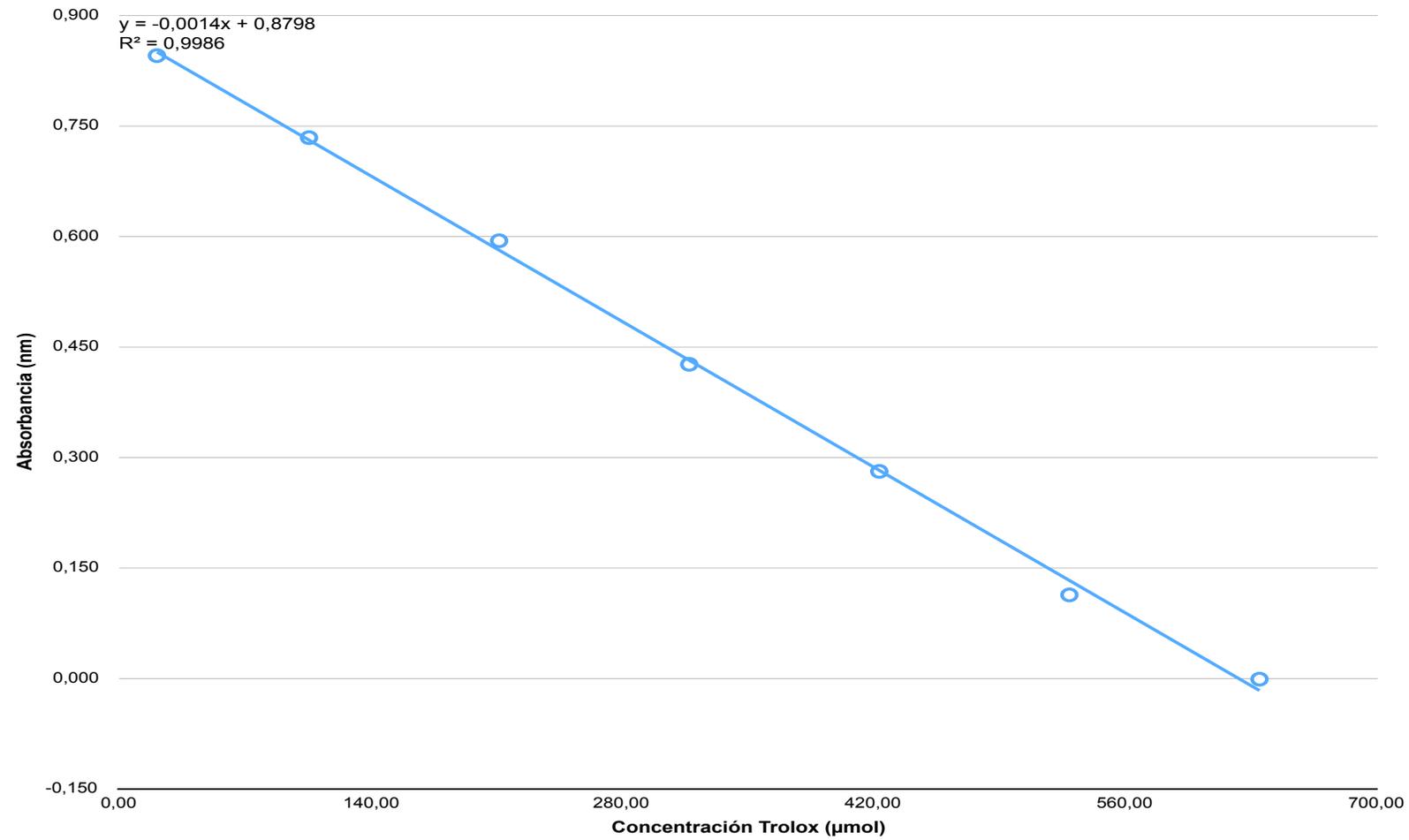
Elaboración: El Autor.

ANEXO J. Curva de calibración del Método de DPPH.



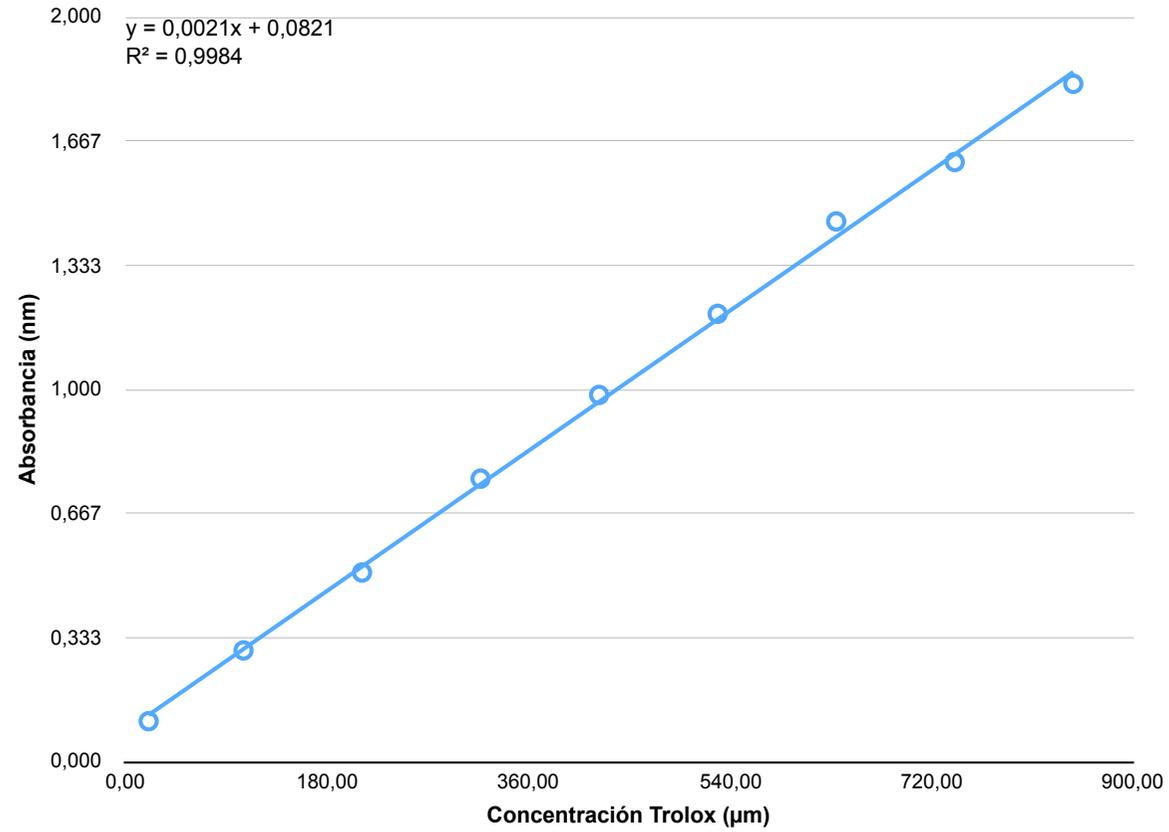
Elaboración: El Autor.

ANEXO K. Curva de calibración del Método de ABTS.



Elaboración: El Autor.

ANEXO L. Preparación de estándares para la curva de calibración del Método de FRAP.



Elaboración: El Autor