



**Obtención de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria.**

Jarrín Núñez, Karen Nicole

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Dr. Trujillo Toledo, Luis Enrique. Ph.D.

Sangolquí 6 de junio de 2021

# COPYLEAKS

tesisparacopyleaks.docx

Scanned on: 18:3 January 28, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	94
Words with Minor Changes	0
Paraphrased Words	106
Omitted Words	19



LUIS ENRIQUE  
TROJILLO  
TOLEDO



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Certificación**

Certifico que el trabajo de titulación, denominado "Obtención de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Annona comosus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria" fue realizado por la señorita Jarrín Núñez, Karen Nicole el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 28 de enero del 2022

Firma:



Escaneado electrónicamente por:  
LUIS ENRIQUE  
TRUJILLO  
TOLEDO

---

**Dr. Luis E. Trujillo, Ph.D.**

**C.C.: 1755850276**



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Jarrín Núñez, Karen Nicole**, con C.C. 1716845506, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: "**Obtención de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria**" es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 28 de enero del 2022

Firma:

**Jarrín Núñez, Karen Nicole**

**C.C. 1716845506**



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de publicación

Yo, **Jarrín Núñez, Karen Nicole**, con C.C. 1716845506, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **"Obtención de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad

Sangolquí, 28 de enero del 2022

Firma:

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'Karen Nicole Jarrín Núñez', is written over a horizontal dotted line.

**Jarrín Núñez, Karen Nicole**

**C.C. 1716845506**

### **Dedicatoria**

Este trabajo primero va dedicado a Dios que sin él nada de esto ni de la vida misma sería posible. A mi familia por siempre estar, llenarme de amor y hacer de mi vida una diversión total.

## **Agradecimientos**

Agradezco a todas las personas que han estado al lado mío en este camino, digo a todos ya que han sido muchas personas que con su esencia han marcado esta parte de mi vida, pero especialmente agradezco: mis papis y mi hermano por ayudarme en todo lo que necesité y por estar pendientes que acabe este proyecto, a mi familia entera, a mi amor por escucharme, apoyarme siempre. A mis compañeros y mucho más a los que se convirtieron en amigos del corazón, de las traspasadas, de las lágrimas, del estrés, de las peleas, del llegar modo “zombie” a la semana de “conjuntas”, a mis amiguitos de la alegría, de las risas (que nos sirvieron muchas veces para aplacar la frustración). A los profesores llegaron a ser mis amigos y con eso demostrarme que la amistad sincera no tiene edad, género, ni títulos, gracias por sus consejos, sus chistes y toda su sabiduría impartida. A mi tutor de tesis, por su ayuda y siempre estar dispuesto a que todo sea en nuestro beneficio. Al director del departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura. A Andrea Rodríguez por su ayuda en el laboratorio. A Wildland, la empresa que me dio la oportunidad de aprender muchas cosas nuevas y conocer personas muy especiales. En fin, a todos ustedes gracias por existir.

Finalmente agradezco a la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE y a sus trabajadores. A los profesores en general, que dedicaron su tiempo para poder brindarme diversos conocimientos que hicieron posible mi desarrollo profesional y personal.

## Índice de contenido

Copyleaks.....	2
Informe de conformidad .....	3
Responsabilidad de autoría .....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria .....	6
Agradecimientos.....	7
Resumen .....	14
Abstract .....	15
Capítulo 1: Introducción .....	16
Antecedentes.....	16
Justificación e importancia .....	17
Objetivo general del proyecto .....	19
Objetivos específicos .....	19
Hipótesis.....	19
Capítulo 2: Marco referencial .....	19
Proteínas.....	19
Colágeno.....	20
Aplicaciones del colágeno.....	21
Colágeno hidrolizado .....	21
Ananas comusus (piña).....	22
Microencapsulación.....	22
Generalidades.....	22
Microcápsulas.....	23



Aplicaciones.....	24
Técnicas de microencapsulación .....	24
Secado por atomización .....	25
Agentes utilizados en la microencapsulación .....	26
Lípidos.....	26
Gomas.....	27
Maltodextrina .....	27
Método de Bradford .....	28
SDS PAGE .....	28
Pruebas de calidad del microencapsulado .....	28
Solubilidad .....	29
Higroscopicidad .....	29
Fluidez .....	29
Porcentaje de ceniza.....	30
Humedad .....	30
Microscopio electrónico de barrido (SEM) .....	31
Aplicaciones .....	31
Capítulo 3: Materiales y metodología .....	31
Colaboradores científicos .....	31
Director del proyecto .....	31
Colaborador del proyecto .....	31
Área de estudio.....	32
Metodología .....	32
Selección del colágeno hidrolizado y pulpa de Ananas comusus (piña).....	32
Caracterización del colágeno hidrolizado .....	32
Cuantificación de proteína mediante el método de Bradford .....	32

Análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE .....	33
Preparación de la mezcla de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña) .....	34
Caracterización del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña) .....	34
Obtención de las microcápsulas por Secado a través de atomización.....	34
Humedad .....	35
Rendimiento de encapsulación. ....	35
Análisis estadístico.....	35
Caracterización del microencapsulado optimizado. ....	37
Solubilidad .....	37
Higroscopicidad .....	37
Propiedades organolépticas .....	37
Porcentaje de ceniza .....	37
Fluidez .....	38
Caracterización en el SEM .....	38
Capítulo 4: Resultados y discusión .....	38
Caracterización del colágeno hidrolizado .....	38
Cuantificación de proteína mediante el método de Bradford. ....	38
Análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE .....	39
Caracterización del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña). ....	40
Microencapsulado .....	41
Obtención de las microcápsulas por Secado a través de atomización.....	41
Humedad .....	42
Rendimiento .....	42
Optimización de la microencapsulación: Rendimiento (%) y Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia .....	43

Solución optimización: Humedad (%); Rendimiento (%) .....	53
Predicción de respuesta múltiple .....	53
Caracterización del microencapsulado optimizado. ....	54
Solubilidad .....	54
Higroscopicidad .....	55
Propiedades organolépticas .....	55
Porcentaje de ceniza .....	56
Fluidez .....	56
Caracterización en el SEM .....	57
Capítulo 5: Conclusiones.....	58
Capítulo 6: Recomendaciones.....	59
Apéndices .....	60
Apéndice A .....	60
Bibliografía.....	61

### Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Conformación estructural del colágeno .....	20
<b>Figura 2</b> Tipos de microcápsulas .....	23
<b>Figura 3</b> Proceso de secado por aspersión.....	26
<b>Figura 4</b> Curva patrón Albúmina sérica bovina .....	33
<b>Figura 5</b> Análisis SDS PAGE demuestras de colágeno hidrolizado y <i>Ananas comusus</i> (piña).....	40
<b>Figura 6</b> Diagrama de Pareto Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia .....	48
<b>Figura 7</b> Diagrama de Pareto Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia .....	49
<b>Figura 8</b> Superficie de respuesta para rendimiento vs frecuencia y temperatura .....	50
<b>Figura 9</b> Superficie de respuesta para rendimiento vs flujo de alimentación y temperatura .....	50
<b>Figura 10</b> Superficie de respuesta para rendimiento vs frecuencia y flujo de alimentación .....	51
<b>Figura 11</b> Superficie de respuesta para humedad vs frecuencia y temperatura .....	51
<b>Figura 12</b> Superficie de respuesta para humedad vs flujo de alimentación y temperatura .....	52
<b>Figura 13</b> Superficie de respuesta para humedad vs frecuencia y flujo de alimentación .....	52
<b>Figura 14</b> Superficie de respuesta múltiple de variables evaluadas.....	54
<b>Figura 15</b> Imágenes SEM de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con <i>Ananas comusus</i> (piña).....	57

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Valores para el índice de Carr .....	30
<b>Tabla 2</b> Diseño factorial 2 <sup>3</sup> .....	36
<b>Tabla 3</b> Tratamientos del análisis estadístico .....	36
<b>Tabla 4</b> Concentración de colágeno hidrolizado medido en la muestra .....	39
<b>Tabla 5</b> Características organolépticas del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).....	41
<b>Tabla 6</b> Resultados obtenidos en los ensayos realizados previamente a la optimización.....	42
<b>Tabla 7</b> Coeficientes codificados Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia. 43	43
<b>Tabla 8</b> Coeficientes codificados Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.....	44
<b>Tabla 9</b> Resumen del modelo experimental Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.....	46
<b>Tabla 10</b> Resumen del modelo experimental Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.....	46
<b>Tabla 11</b> Análisis de Varianza Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.....	47
<b>Tabla 12</b> Análisis de Varianza Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.....	47
<b>Tabla 13</b> Parámetros para el proceso de optimización.....	53
<b>Tabla 14</b> Solución del proceso de optimización .....	53
<b>Tabla 15</b> Características organolépticas del microencapsulado optimizado de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).....	55
<b>Tabla A1</b> Medición de la absorbancia de albúmina sérica bovina (BSA) .....	60

## Resumen

Los alimentos y suplementos microencapsulados actualmente han tomado una gran popularidad gracias a las diferentes propiedades que presentan en cuanto a la conservación del producto, en este estudio se obtuvieron microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización, logrando un rendimiento del 90.90% y una humedad del 2%. A partir de estos datos se realizó un diseño experimental utilizando el método de superficie de respuesta para optimizar los parámetros y así, poder replicar este proceso en las futuras producciones a gran escala, se obtuvo un rendimiento final de 90.70% y una humedad de 2.03. Las pruebas de calidad necesarias para el producto realizado se basaron en parámetros sensoriales (olor, sabor, color, viscosidad) y ensayos que evaluaron las propiedades fisicoquímicas de este, las cuales mostraron valores para humedad: 2.03%, solubilidad: 80%, porcentaje de ceniza: 2.5%, higroscopicidad: 10.80% y fluidez: 9.09%.

La morfología de las microcápsulas se obtuvo mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM).

### Palabras clave:

- **COLÁGENO HIDROLIZADO.**
- **MICROENCAPSULADOS.**
- **ANANAS COMUSUS.**
- **OPTIMIZACIÓN.**

### **Abstract**

Microencapsulated foods and supplements have currently become very popular thanks to the different properties they present in terms of product preservation. In this study, microcapsules of hydrolyzed collagen enriched with *Ananas comusus* (pineapple) pulp were obtained using the spray-drying method, achieving a 90.90% of yield and a 2.0% of moisture. Based on this data, an experimental design using the surface response method was carried out to optimize the parameters in order to be able to replicate this process in future large-scale productions, thus obtaining a final yield of 90.70% and a 2.03 moisture content.

The necessary quality tests for this product were based on sensory parameters (odor, flavor, color, viscosity) and assays that evaluated the physicochemical properties of the final product (moisture: 2.03%, solubility: 80%, ash percentage 2.5%, hygroscopicity: 10.80%, fluidity: 9.09%).

The morphology of the microcapsules was obtained by scanning electron microscopy (SEM).

#### **Key words:**

- **HYDROLYZED COLLAGEN.**
- **MICROENCAPSULATED.**
- ***ANANAS COMUSUS*.**
- **OPTIMIZATION.**

## Capítulo 1: Introducción

### Antecedentes

El colágeno es conocido desde hace mucho tiempo atrás, aunque no con tal nombre, ya formaba parte de la dieta de nuestros ancestros que lo consumían de forma natural y en una cantidad muy superior a la que se consume en la actualidad. En la antigüedad los extractos de tejidos animales eran estudiados y el uso de estos se reconocieron como remedio para problemas de las articulaciones (Peptan, 2020).

El término colágeno deriva de la palabra griega “kolla” que en español significa pegamento y el sufijo “gen” que significa producción, razón por la que alrededor del siglo XIX se lo definía como: “el componente de los tejidos que al hervirlo produce pegamento”. Con el paso del tiempo y gracias a los estudios realizados, su definición se volvió un poco más científica y fue considerado como el pegamento biológico que mantiene a las células en su sitio (Sorusanova, Pubmed, 2018) . En la actualidad el colágeno es conocido como la proteína principal presente en los tejidos conectivos. En Europa, los péptidos de colágeno comenzaron a producirse industrialmente en el año 1947 aproximadamente, llegando a ser cada vez más utilizado en productos cosméticos y como fuente de proteínas para varios alimentos (GME, 2020).

Actualmente el colágeno ha sido empleado en la regeneración del tejido óseo (Rahman, 2019), materiales biomédicos como microesferas para tratar la osteoartritis (Yeung P, 2019), etc.

*Ananas comusus* (piña) es una fruta tropical originaria de Sudamérica, impresionó a Cristóbal Colón durante su segundo viaje en la Isla de Guadalupe en 1493 y por el parecido del fruto a la semilla del pino la denominó "piña". Actualmente esta fruta se cultiva en varios países tropicales, siendo Brasil, Filipinas, Tailandia e India los principales productores (Borbón, 2016).

En los últimos años, la piña ha ganado mucha atención gracias a su composición nutricional que ha incrementado potencialmente su uso como alimento funcional (Maimunah, 2020), como producto



para mejorar el aroma y para la producción de esencias naturales, mediante la extracción de sus compuestos volátiles (Barretto, 2013), etc.

La microencapsulación por secado por atomización es un proceso que comenzó a desarrollarse para la industria cosmética entre 1930 y 1940 por la National Cash Register (NCR), en Ohio, EEUU. En cuanto al área alimenticia su aplicación es más reciente, el interés en el uso de este proceso despertó debido a que permite aumentar la estabilidad y la vida útil del producto que se encapsula, abaratando así los costos de producción de la tecnología alimenticia (Yáñez, 2005).

En el área de microalimentos se ha destacado un aporte científico del 11.6% en comparación con el área de nanotecnológica, lo que sugiere un avance enorme en aplicaciones para la industria comercial, siendo China uno de los países de mayor producción (Gómez, 2018). Existen variedad de investigaciones que han utilizado esta tecnología tanto en el área alimenticia para la producción de hidrolizado de proteínas obtenido de subproductos del procesamiento de la tilapia (De Paris J. C., 2016), como en el área farmacéutica, en el desarrollo y caracterización de micropartículas de pramipexol (Beltrán, 2017).

En el Ecuador se han generado algunos estudios en cuanto a la producción de micropartículas de fruta: Pérez (2017) realizó la microencapsulación de pulpa de guanábana y Troya (2018) la microencapsulación de los carotenoides contenidos en el taxo (*passiflora tripartita var. Mollisima*).

### **Justificación e importancia**

El colágeno es una proteína fibrilar que conforma los tejidos conjuntivos y conectivos del cuerpo humano, esencialmente la piel, las articulaciones y los huesos (Sorusanova, Pubmed, 2018). Se ha establecido que las fibras de colágeno se deterioran con el paso del tiempo, perdiendo espesor y fuerza siendo así su relación con el envejecimiento cutáneo directamente proporcional, es por esta razón que el colágeno ha ganado un gran interés en la industria cosmética y alimenticia (Ávila, 2018).

La vitamina C desempeña un papel fundamental en el conjunto de reacciones químicas en el cuerpo que son necesarias para producir colágeno, *Ananas comusus* (piña) además de poseer un sabor muy apetecible, usado como saborizante en diversos productos, brinda un alto contenido en vitamina C, que ayuda a la síntesis de colágeno (Muller, 2020), aporta también otros compuestos bioactivos que actúan como antiinflamatorios, antioxidantes, ayudan el control de la función del sistema nervioso, y el mejoramiento del movimiento intestinal (Maimunah, 2020).

Las aplicaciones del proceso de microencapsulación se han incrementado debido a la protección que brindan las microcápsulas a componentes empleados en la industria, permitiendo que estos componentes resistan las condiciones del proceso, a la humedad, al calor utilizado mejorando así la estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos para su posterior liberación, incluso para liberarlos en forma controlada en un lugar elegido y un momento deseado. (Yáñez, 2005) (Cuellas, 2017).

El secado por atomización es el método más utilizado en la encapsulación de ingredientes alimenticios (vitaminas, bacterias probióticas, lípidos, aceites vegetales, minerales, pigmentos, etc.) (Wandrey, 2010), bajos costos de procesamiento, una buena estabilidad del producto final y es uno de los métodos más económicos para conservar los nutrientes, (Favaro C. A., 2010). El secado por atomización no es una técnica ampliamente conocida ni aplicada en el Ecuador y los resultados de las investigaciones publicadas en bibliografía se refieren con mayor frecuencia a una escala de laboratorio.

Tomando en consideración la información mencionada anteriormente, el presente estudio alcanza un valor bastante significativo al construir un producto que mejora la calidad de vida del ser humano. En el ámbito industrial esta investigación refleja una gran importancia, puesto que específicamente presenta un protocolo a escala industrial, que establecerá los parámetros óptimos del equipo de secado por atomización (Spray Dryer) para la obtención de microcápsulas de colágeno y pulpa de *Ananas comusus* (piña), así como diferentes ensayos para evaluar la calidad del producto obtenido,

estableciendo de esta manera un análisis base que puede ser modificado según los intereses de futuros estudios sobre microencapsulación.

### **Objetivo general del proyecto**

Obtener microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria.

### **Objetivos específicos**

- Determinar las características fisicoquímicas y organolépticas del colágeno hidrolizado líquido obtenido previamente y el enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña).
- Determinar los parámetros óptimos del proceso de secado por atomización de microcápsulas de colágeno hidrolizado y pulpa de *Ananas comusus* (piña).
- Caracterizar las microcápsulas obtenidas del proceso de secado por atomización mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y pruebas fisicoquímicas.
- Evaluar la calidad de las microcápsulas según indicadores sensoriales y tecnológicos estandarizados.

### **Hipótesis**

Se puede obtener microcápsulas de colágeno hidrolizado y pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por aspersion con eficiencia mayor al 90%.

## **Capítulo 2: Marco referencial**

### **Proteínas**

Las proteínas son moléculas complejas formadas por cientos o miles de unidades más pequeñas llamadas aminoácidos, que se unen entre sí en largas cadenas. Estas realizan varias funciones muy importantes dentro de los seres vivos, estas realizan la mayor parte del trabajo que se da en las células y

son necesarias para la estructura y correcta función de los órganos del cuerpo humano. (MedlinePlus, 2021).

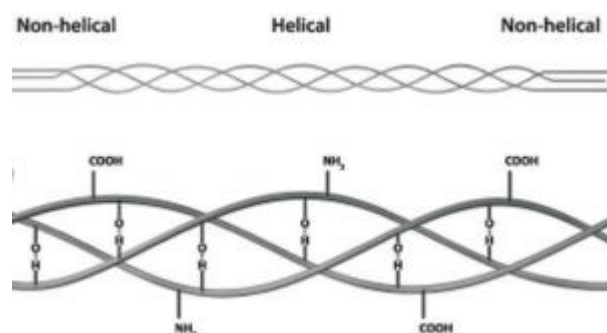
## Colágeno

El colágeno es la proteína estructural fibrosa más abundante en los animales, representa aproximadamente el treinta por ciento del contenido total de proteínas, se encuentra presente en piel, cabello, articulaciones, huesos y vasos sanguíneos (Lin et al., 2019) (Muller, 2020). El colágeno regula la proliferación, migración y diferenciación celular mediante la interacción con algunos receptores, este proceso contribuye en la correcta realización de funciones mecánicas, organización y formación de los tejidos (Ricard, 2011).

La conformación estructural de esta proteína sigue una jerarquía compleja dividida en cuatro estructuras: estructura primaria (tripleto de aminoácidos  $[Gly - X - Y]_n$ , con y sin interrupciones), estructura secundaria (ocupación de las posiciones X e Y por la prolina y su forma hidroxilada, la hidroxiprolina, respectivamente), estructura terciaria (triple hélice, formada por tres cadenas alfa de poliprolina de idéntica longitud), lo que confiere al colágeno una estructura cuaternaria única (fibrillas) (Sorushanova, 2018) (Ferreira, 2012).

### Figura 1

*Conformación estructural del colágeno.*



*Nota:* Modificado de Sorushanova, (2018). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30126066/>

### ***Aplicaciones del colágeno***

Debido a su variedad de características como la facilidad de combinación con otros materiales, abundancia, biocompatibilidad, alta porosidad, fácil procesamiento, hidrofilia, baja antigenicidad y su capacidad de absorción en el cuerpo, esta proteína tiene muchas aplicaciones en varios ámbitos industriales como el alimenticio, farmacéutico y biomédico (Soroushanova, 2018)

En la parte biomédica Lu et al. (2004) demostraron la función del colágeno en permitir la proliferación de las células específicas en el tejido cardiovascular. Otra aplicación en esta área son las esponjas de colágeno, usadas comúnmente como biomaterial biodegradable y empleadas en implantes de tejido conectivo del hueso, apósitos para heridas y prótesis para la regeneración del nervio (Schoof, 2001).

En la industria farmacéutica y cosmética se ha utilizado esta proteína para la prevención de los signos de la edad, en la producción de piezas para curar heridas y en el desarrollo de medicamentos que liberan los principios activos dentro del cuerpo (Serrano, 2011).

### **Colágeno hidrolizado**

El colágeno hidrolizado es un amasijo de péptidos de colágeno con un peso molecular menor a 10 000 Da (Juher, 2015). Se obtiene mediante el proceso de hidrolización cuando la gelatina se rompe en pequeños fragmentos llamados péptidos, estos son solubles en agua fría, se digieren mejor ya que es la forma de colágeno que nuestro cuerpo mejor absorbe. Más del 90 % de los péptidos de colágeno aparecen en nuestro torrente sanguíneo unas horas después de consumirlos y son enviados a su lugar de acción en nuestro cuerpo (Peptan, 2020) .

Existe abundante evidencia dentro de la ciencia (ensayos in vitro, in vivo y clínicos) sobre el efecto positivo que la ingesta continuada de colágeno hidrolizado ejerce sobre las patologías osteoarticulares degenerativas, pérdida de masa ósea y el envejecimiento dérmico, el colágeno potencia la síntesis de colágeno dentro del cuerpo y así estimula la regeneración de tejidos colaginosos.

Su alto nivel de seguridad y tolerancia, hacen que sea un suplemento adecuado para tomar a largo plazo (Juher, 2015).

La cantidad recomendada de consumo diario de colágeno es de 10 g, este valor abarca la demanda exigida por el organismo diariamente para realizar un mantenimiento eficaz de nuestro cuerpo (Nutricioni, 2019).

### ***Ananas comusus (piña)***

*Ananas comusus* (piña) es una fruta tropical ampliamente cultivada en Sudamérica que puede consumirse fresca o puede encontrarse en diversos productos alimenticios. La piña contribuye con la salud ya que tiene varias actividades biológicas ventajosas, como antioxidante (flavonoides, ácidos orgánicos, bromelina), anticancerígeno, antibacteriano, antiinflamatorio y antiagregante plaquetario (Muller, 2020) (Jebur, 2020). Esta fruta contiene un alta cantidad de vitamina C, aporta 50 miligramos de vitamina C por cada 100 gramos consumidos (García, 2021).

El papel de la vitamina C como nutriente es muy importante en el organismo ya que proporciona una variedad de beneficios para la salud, pero también es parte fundamental en la formación de colágeno, el cuerpo humano sin niveles adecuados de vitamina C no es capaz de formar, almacenar o producir más colágeno (Muller, 2020).

Basándose en sus aportes nutricionales la piña puede considerarse una de las frutas más útiles para para fabricar compuestos con valor añadido (antioxidantes, bromelina, etc.) dentro de la industria alimenticia (Maimunah et al., 2020).

### **Microencapsulación**

#### ***Generalidades***

La microencapsulación es un proceso de empaquetamiento de sustancias en escala microscópica, esta técnica tiene un impacto evidente en la biotecnología, la industria y la ciencia de los alimentos, ya que el recubrimiento de diferentes componentes (fitoquímicos, aditivos volátiles, enzimas,

bacterias, etc.) con polímeros da lugar a la formación de una red hidrofílica (microcápsula) que logra que estos componentes de interés no se disipen, otorgándoles además estabilidad, conservación frente a la pérdida nutricional y protección de otros compuestos con los que podrían reaccionar (C. Araneda, 2009) (Cuellas, 2017) (Nazzaro et al., 2012).

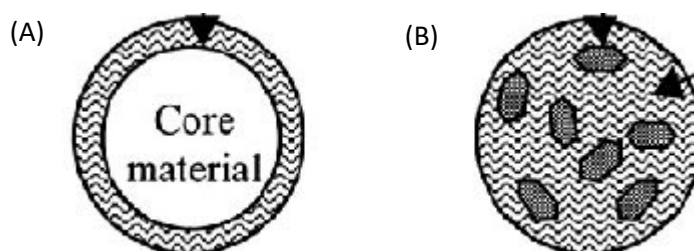
### **Microcápsulas**

Las microcápsulas son estructuras de núcleo-pared y pueden existir en dos formas, sistema de depósito y sistema de matriz. En el sistema de depósito, el núcleo se encuentra recubierto con el material de la pared, mientras que, en un sistema de matriz, el material del núcleo está dentro de una red continua del material de la matriz que carece de una pared externa distintiva (Dhakala & Jibin, 2020). Las microcápsulas protegen el producto dentro de ellas de la luz y el oxígeno, son capaces también de generar una liberación de su contenido a una velocidad que se puede controlar si se encuentran en condiciones específicas (Parra, 2010).

Estas estructuras pueden ser mononucleares, en las que un material central está encapsulado por una cáscara o agregadas donde una cápsula consiste en múltiples núcleos (ilustración 2). Pueden ser esféricas cilíndricas, ovaladas y de forma irregular (Nazzaro et al., 2012).

### **Figura 2**

*Tipos de microcápsulas.*



*Nota:* (A) microcápsula mononuclear (B) microcápsula de agregados. Modificado de pigmentationandtexture (2013).

### **Aplicaciones**

Actualmente muchas sustancias (perfumes, fertilizantes, fármacos, lípidos, sabores volátiles prebióticos, colorantes, enzimas, fitoesteroles, luteína, ácidos grasos, pigmentos vegetales, antioxidantes, vitaminas, minerales, etc.) pueden ser microencapsuladas en partículas de polvo sólidas o en emulsiones estructuradas (Palzer, 2009), razón por la que el proceso de microencapsulación es muy utilizado dentro de la industria alimenticia, farmacéutica, médica, textil, cosmética, química, etc. (Parra, 2010).

Dentro de la industria alimenticia, las aplicaciones de la microencapsulación son múltiples ya que la estabilidad y viabilidad de biocompuestos generadas por el proceso conduce a una mejora del sabor, aroma y apariencia de los productos (Montes, 2007) (CITE, 2018).

Este proceso ha permitido solucionar también algunos problemas en productos alimenticios, como la excesiva adición de ingredientes y aditivos, ya que permite una mejor conservación, protección, reducción de volatilidad, higroscopicidad y reactividad incrementando la estabilidad del alimento o componente de interés bajo condiciones ambientales adversas (Favaro C. A., 2010) (Cuellas, 2017).

La microencapsulación de aceites esenciales actualmente es un proceso muy interesante dentro de la industria alimenticia, ya que, los aceites esenciales al ser componentes naturales son muy cotizados, implementando este proceso en estos se previene su volatilización y aumenta su vida útil (Parra, 2010).

### **Técnicas de microencapsulación**

Las técnicas de microencapsulación se dividen en dos grupos: químicos dentro de los cuales algunos métodos son: coacervación, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular y mecánicos (secado por aspersión, secado por congelamiento y extrusión). El proceso de secado por aspersión es el proceso de microencapsulación más utilizado en la industria alimenticia (Madene, 2006) (CITE, 2018).



**Secado por atomización.** El secado por atomización es el método más común utilizado para encapsular una serie de materiales líquidos y sólidos. Es un método muy versátil por ser el más económico para conservar los compuestos bioactivos, aumentar su estabilidad y mejorar su biodisponibilidad (Favaro C. A., 2010) (Fabela, 2017). También es muy utilizado debido a su capacidad para evaporar humedad rápidamente, mantener una temperatura baja en las microcápsulas (Dhakala & Jibin, 2020) y producir microcápsulas de alta calidad, con un tamaño inferior a 40  $\mu\text{m}$  (Dias, 2015).

El secado por aspersión proporciona un 96 a 100% de eficiencia de encapsulación, valores superiores en comparación con otros métodos (López, 2008).

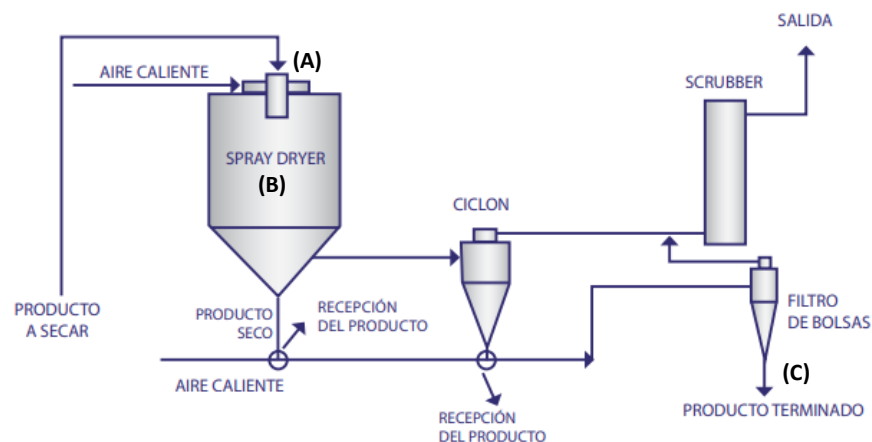
El proceso consta de varias etapas:

1. **Atomización:** El líquido se rompe en un gran número de gotas aumentando así el área superficial del fluido y optimizando las transferencias de calor y masa entre aire caliente y las partículas líquidas, esto permite que se obtenga una velocidad de secado mayor. Este es un paso muy importante para las siguientes etapas ya que aquí se reúnen las condiciones ideales para el proceso de evaporación, el cual da lugar a la formación de las partículas secas (Santos, 2017) (Vallejo, 2019).
2. **Conversión de gota a partícula:** En esta etapa las gotas entran en contacto con el aire caliente, esto permite que la evaporación de la humedad de la superficie de la gota sea rápida y uniforme lo que resulta en su transformación en partículas secas (Santos, 2017).
3. **Recolección de partículas:** Las partículas secas se disocian del aire caliente en dos fases (primaria y secundaria). En la separación primaria, las partículas más densas se recuperan en el fondo de la cámara de secado, en la secundaria, las partículas más pequeñas se transfieren a dispositivos externos, donde se separan del aire húmedo (Vallejo, 2019).

La temperatura de entrada y salida del aire de secado, tasa de flujo de alimentación, viscosidad de la alimentación (García G. M., 2004), frecuencia y el acondicionamiento de la materia prima son los parámetros que se deben controlar durante el proceso de secado por aspersión (Santos, 2017).

**Figura 3**

*Proceso de secado por aspersión.*



*Nota.* (A) Atomización (B) Conversión de gota a partícula (C) Recolección de partículas Adaptado de CIMA industries (2019)

[www.cimaindustries.com/wpcontent/uploads/assets/pdf/es/farmaceutica/secador.pdf](http://www.cimaindustries.com/wpcontent/uploads/assets/pdf/es/farmaceutica/secador.pdf)

### **Agentes utilizados en la microencapsulación**

Los componentes encapsulantes son aquellos que forman una cubierta que funciona como matriz protectora de la sustancia a encapsular, esta ayuda a proteger al componente activo. (Parra, 2010) (Gharsallaoui, 2007) (Fabela, 2017).

### **Lípidos**

Estos componentes forman películas capaces de envolver las partículas individuales, haciendo que la microencapsulación sea uniforme, algunos ejemplos son: grasa láctea, lecitinas, ceras, parafinas, aceites hidrogenados (Yañez, 2002).

### **Gomas**

Son componentes casi siempre insípidos, pero al ser añadidos en algún alimento pueden afectar el sabor de este y su consistencia, son solubles, tienen una baja viscosidad y poseen varias características emulsificantes lo que las hacen muy apropiadas para ser usadas en la mayoría de los métodos de encapsulación (Madene, 2006).

### **Maltodextrina**

Es un polímero que se obtiene de la hidrólisis parcial del almidón. Está compuesta por múltiples unidades de glucosa, unidos por enlaces alfa (1-4) glucosídicos (Lino E. J., 2012).

A la vista es un polvo blanco cremoso, que exhibe algunas características: moderadamente dulce, alta solubilidad en agua, altamente higroscópico y baja viscosidad.

La maltodextrina tiene excelente protección al núcleo durante el secado por atomización, por su rápida formación de una pared densa durante el secado. Su contenido calórico es aproximadamente de 1 kcal/g (Vallejo, 2019).

La maltodextrina es el encapsulante más utilizado en la conservación de compuestos bioactivos, debido a que es económica, de fácil adquisición y además posee funciones tales como formar soluciones incoloras de baja viscosidad en altas concentraciones (Mahanta, 2014), favoreciendo el proceso de secado por atomización y permitiendo la formación de una película o barrera protectora que reduce la permeabilidad del oxígeno y maximiza la incorporación y retención de compuestos funcionales (Saikia, 2015).

Díaz (2017) en su artículo menciona que en el proceso de encapsulación mediante secado por atomización, el tratamiento con mayor efecto fue el realizado a una temperatura de 150 °C con 40% de maltodextrina, logrando prolongar la estabilidad del producto hasta 72 horas para polifenoles totales y 24 horas para la capacidad antioxidante. Con esto se asegura que cualquier componente

microencapsulado se libera en el intestino delgado, donde quedan en disponibilidad para su absorción en el organismo.

### **Método de Bradford**

El ensayo de proteínas de Bradford es uno de los métodos más comunes para medir la concentración de proteínas en solución, una de las características del ensayo de proteínas de Bradford es su simplicidad: combinar una microcantidad de proteína con colorante azul de Coomassie, mezclar bien, incubar y realizar la medición de la absorbancia a 590 nm (Cheng et al., 2016).

Esta prueba permite una cuantificación rápida de proteínas que se encuentren presentes en células, fracciones de estas o proteínas recombinantes. La relación de las mediciones de absorbancia a 590 nm y 450 nm es estrictamente lineal con la concentración de proteínas cuando se tienen condiciones de ensayo estándar (Ernst & Zor, 2010).

### **SDS-PAGE**

El SDS PAGE es una técnica que se utiliza para la separación de proteínas en función de su peso molecular y su carga. En esta técnica las moléculas cargadas se colocan en un campo eléctrico y migran hacia el electrodo con el signo opuesto. Las moléculas más pequeñas migran más rápido debido a una resistencia menor durante la electroforesis, la estructura y la carga de las proteínas también influyen en la velocidad de migración.

El dodecil sulfato de sodio (SDS) elimina la carga de las proteínas, y es así como éstas se separan en función de la longitud de la cadena polipeptídica (Byjus, 2022).

### **Pruebas de calidad microencapsulado**

Los productos microencapsulados tiene varias características (biológicas, químicas o físicas), las cuales deben ser evaluadas mediante varias pruebas estándar (humedad, solubilidad, higroscopicidad, fluidez, %ceniza) para poder determinar la calidad final del producto. Estas pruebas son un paso

esencial para obtener resultados perfectos ya que ayudan a observar el comportamiento del producto mediante la interacción de las diferentes características con el entorno en el que se encuentra (Sidaoui, 2011).

### ***Solubilidad***

Esta propiedad es muy importante a la hora de caracterizar un producto, ya algunos alimentos o suplementos microencapsulados usualmente debe ser reconstituidos en algún líquido para poder ser consumidos.

La solubilidad está relacionada con la estructura del producto microencapsulado, las formas cristalinas y amorfas presentan diferencias en la solubilidad en agua, a mayor grado de superficies amorfas, mayor solubilidad y la velocidad de disolución, mientras que una mayor presencia del estado cristalino disminuyen estas características (Orozco, 2013).

### ***Higroscopicidad***

Un polvo higroscópico es aquel que tiende a retener la humedad del aire mediante absorción o adsorción. Dentro de los polvos higroscópicos que se conocen más están la leche en polvo, el sorbitol, el cloruro de calcio, etc. (Sidaoui, 2011).

### ***Fluidez***

La fluidez se define como la capacidad de un polvo de fluir de la manera deseada, es un parámetro importante dentro del procesamiento de productos microencapsulados, ya que si el producto tiene dificultad en fluir se pueden formar grumos, ocasionando daños en los equipos usados en los procesos industriales. Existen varias pruebas para medir la fluidez de los polvos: ensayos de sedimentación, medición del ángulo de reposo, ensayos de comparación de la sedimentación, etc. (Sidaoui, 2011).

Un índice de Carr superior a 35 se considera una indicación de mala fluidez, y por debajo de 20 de buena fluidez (Jinapong, 2007), estos valores se pueden observar en la Tabla 1.

**Tabla 1***Valores para el índice de Carr.*

<b>Índice de Carr (%)</b>	<b>Fluidez</b>
<15	Excelente
15-20	Buena
20-35	Aceptable
35-45	Mala
>45	Muy mala

*Nota:* Adaptado de Jinapong (2007)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877407002853>

### ***Porcentaje de ceniza***

La determinación del porcentaje de cenizas es una prueba que se realiza para tasar la cantidad total de minerales (residuos obtenidos al quemar un alimento, principalmente óxidos metálicos) que se encuentran en un producto, este proceso una de las pruebas irremplazables en los estudios para caracterización de los productos y su calidad dentro la industria alimenticia (Bolívar, 2020).

### ***Humedad***

La determinación de humedad es una de las técnicas más importantes y mayoritariamente usada en el control y conservación de los alimentos, la humedad presente en un microencapsulado se establece como un índice de estabilidad del producto, este factor que debe ser menor o igual a 5 es importante en los procesos industriales como la producción de cereales, la mezcla de productos sólidos finos, en la elaboración de pan, etc. (Unizar, 2017).

Si la humedad contenida en un microencapsulado es alto, es posible que se den problemas de contaminación con microorganismos o formación de aglomerados, afectando así el flujo del polvo (Sidaoui, 2011).

### **Microscopio electrónico de barrido (SEM)**

El Microscopio electrónico de barrido es un microscopio que utiliza un haz de electrones para lograr formar una imagen. Permite visualizar una gran parte de la muestra de interés ya que posee una alta profundidad de campo. Posee una alta magnificación y produce imágenes de alta resolución que ayuda en la determinación de las características de la muestra que son imperceptibles por el ojo humano (Ubu, 2020).

### ***Aplicaciones***

Mediante los análisis realizados por el SEM se puede obtener datos de la forma y tamaño de la muestra, es por esto que el microscopio electrónico de barrido es utilizado se utiliza en la industria petroquímica, metalurgia, en medicina forense, biomateriales, nanomateriales, alimentos, etc.

En la industria alimentaria, el microscopio electrónico de barrido es muy útil para observar las diferentes morfologías que suceden en los procesos y para mantener un control de calidad en los productos destinados para consumo (Scai, 2016).

## **Capítulo 3: Materiales y metodología**

### **Colaboradores científicos**

#### ***Director del proyecto:***

Dr. Luis E. Trujillo, Ph.D.

*Docente Investigador Carrera de ingeniería en Biotecnología. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.*

#### ***Colaborador del proyecto:***

Ing. Hernán Paz.

*Docente a tiempo parcial de la Carrera de Marketing. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.*

*Director de Operaciones en la empresa Wildland Cía. Ltda.*

### **Área de estudio**

El proyecto fue realizado en el laboratorio de la empresa “Wildland” en Ecuador, provincia Pichincha, ciudad de Quito, sector de Puengasí - Calle K 204 entre calles M y N.

### **Metodología**

#### ***Selección del colágeno hidrolizado y pulpa de Ananas comusus (piña)***

Se utilizó colágeno hidrolizado en forma líquida, provisto por la empresa Wildland.

La pulpa de *Ananas comusus* (piña) se obtuvo de la empresa “FRISCO”.

#### ***Caracterización del colágeno hidrolizado***

**Cuantificación de proteína mediante el método de Bradford.** Para cuantificar la proteína presente en las muestras se utilizó el método espectrofotométrico de Bradford. El protocolo se basó en el kit de determinación de proteínas *Método de Bradford* (Winkler, 2017).

Se utilizó albúmina sérica bovina (BSA) como proteína estándar. La solución de BSA se realizó mezclando la BSA en polvo con cloruro de sodio 0,15M en una relación 1:1, posteriormente se realizaron 5 diluciones seriadas (0,2; 0,4; 0,6 ;0,8; 1) [mg/mL] con un volumen final de 800uL en cada uno de los tubos.

Se realizó una dilución 1:1 con 0,0016 g colágeno hidrolizado (muestra a medir) y 1.6 mL NaCl y una segunda dilución 1:2, Se añadió 200uL de reactivo de Bradford a todos los tubos (BSA y colágeno hidrolizado), se incubaron a temperatura ambiente por 5 min.

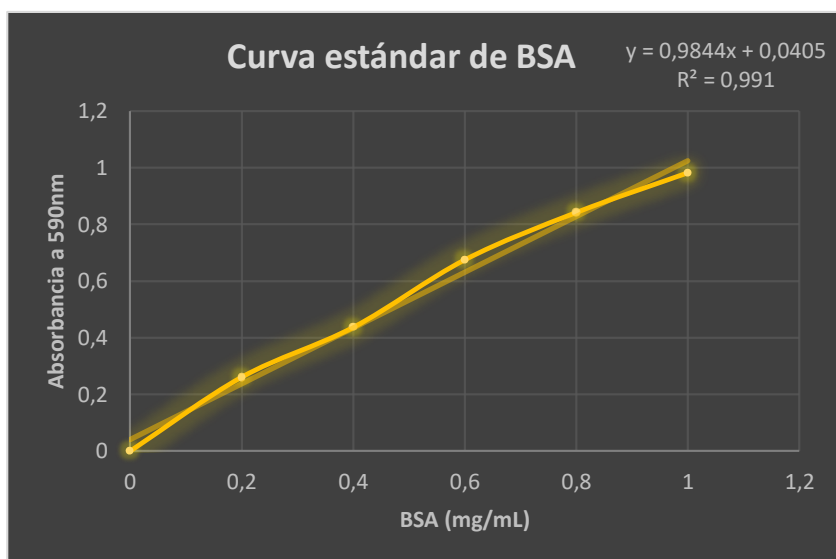
Se midió la absorbancia con el espectrofotómetro ajustado a 595 nm, con los datos de BSA medidos (Tabla A1) se obtuvo una curva estándar que se muestra en la Fig 4 que se usó como curva patrón para el método, se realizó la regresión lineal y se obtuvo la ecuación  $y = 0,9634x + 0,0584$ , mediante la cual fue posible determinar la concentración de colágeno hidrolizado presente en la



muestra medida. El análisis de datos y las gráficas se obtuvieron mediante la herramienta Microsoft Excel.

#### Figura 4

*Curva patrón Albúmina Sérica Bovina.*



*Nota:* Curva patrón Albúmina Sérica Bovina con ecuación de regresión lineal. Elaborado por Nicole Jarrín.

**Análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE.** El análisis de electroforesis se utilizó para determinar la presencia y pureza del colágeno hidrolizado al inicio de la prueba y al final, una vez enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña). El método fue modificado a partir los protocolos establecidos por Laemmli (1970) y el manual de CAMBEX (2017). La muestra de colágeno hidrolizado fue disuelta en SDS 5% e incubada a 70 °C por 20 min. Posterior a ello se mezcló en proporción 1:1 con el buffer de electroforesis (25mM Tris Base, 192mM Glicina y 0.1% SDS). La muestra preparada (15ug muestra, 3um buffer de carga y 2ug B-mercaptoetanol) se cargó en un gel concentrador al 5% y un gel separador al 15%; se utilizó un marcador molecular REF P6649 de Molecular Probes by Life technologies. La corrida se realizó en una cámara de electroforesis vertical Thermo Scientific a 150 v y 100 mA.

***Preparación de la mezcla de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).***

Se tamizó 12 000 g de pulpa de Ananas comusus (piña) mediante un filtro de tela, el residuo (afrecho) fue desechado, del sobrante de pulpa sin impurezas (10 665 g) se midió los grados Brix (11.8), para determinar la cantidad de agente encapsulante (maltodextrina) que era necesario (1095 g) para llegar a un valor de 20 Brix, valor estandarizado por la empresa Wildland para sus procesos de microencapsulación de fruta se utilizó la siguiente fórmula:

$$Maltodextrina (g) = \frac{(Mezcla\ jugo (g)) (\text{°}B_{final} - \text{°}B_{inicial})}{1 - \text{°}B_{final}}$$

Posteriormente a la mezcla se añadió 5880 g de colágeno hidrolizado, este valor se calculó tomando en cuenta que la presentación del producto será en sachets de 30g en donde 20g (67%) corresponde a la fruta + maltodextrina y los 10 g restantes (33%) corresponde al valor diario de colágeno que una persona debe consumir al día. Finalmente se obtuvo 17 453 g de mezcla total, la cual se dividió en tandas de 1100 g para poder realizar las 12 pruebas para el diseño experimental y el producto restante (4250 g) se utilizó para la realización de pruebas de mercado.

Se homogenizó la mezcla a temperatura ambiente por 5 minutos aproximadamente.

***Caracterización del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).***

Se midió el pH con un potenciómetro y los grados Brix con un refractómetro con escala Brix. La viscosidad se midió con un viscosímetro a 25 °C.

Se evaluaron las características organolépticas (color, sabor, olor) del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña).

***Obtención de las microcápsulas por Secado a través de atomización***

El equipo "Spray Dryer", marca Phamao, modelo LPG-100 de acero inoxidable, flujo continuo y capacidad de trabajo de 10L/h se utilizó para el proceso de secado por atomización.

Las pruebas de humedad y rendimiento se realizaron en todas las muestras secadas por atomización ya que estos parámetros corresponden a las variables de respuesta del diseño experimental para el proceso de optimización.

### **Humedad**

Se evaluó la humedad de todas las muestras obtenidas, usando 1 g de muestra aproximadamente en una balanza de humedad.

### **Rendimiento de encapsulación.**

El rendimiento de microencapsulación se determinó para cada uno de los tratamientos, mediante las fórmulas descritas a continuación, fórmulas ya estandarizadas en la empresa Wildland:

$$R(\%) = \frac{\text{Peso real microcápsulas (g)}}{\text{peso teórico microcápsulas (g)}} * 100$$

$$\text{Peso teórico} = \text{Peso total mezcla} * \frac{\text{°Brix mezcla final}}{100}$$

$$\text{Peso total mezcla} = \text{Peso pulpa} + \text{maltodextrina} + \text{colágeno}$$

### **Análisis estadístico**

Para el diseño experimental de la operación del equipo se consideraron tres factores y dos niveles (2<sup>3</sup>): Temperatura de entrada de aire (A), Flujo de alimentación (B) y frecuencia (C). Como variables de respuesta se consideraron al rendimiento de encapsulación y la humedad, ambas variables medidas en porcentajes (Tabla 2). El método utilizado para el análisis fue el de superficie de respuesta, para lo cual se realizaron se realizaron 8 tratamientos a diferentes condiciones: Temperaturas de entrada de aire de secado 175 y 190°C, flujo de alimentación de 40 y 50 mL/min y la frecuencia de 50 y 60 Hz se basaron en la experiencia de los procesos ya realizados en la empresa, así como también en los estudios de Wang (2020), De Paris (2016) y Saikia (2014). Se realizaron también 4 repeticiones con los siguientes parámetros: Temperatura de entrada de aire de secado 182°C, flujo de alimentación de 45 mL/min y la frecuencia de 55 Hz, como puntos centrales necesarios para la realización del análisis experimental, todos estos datos están descritos en la Tabla 3.

**Tabla 2***Diseño factorial 2<sup>3</sup>.*

Factores	Código del factor	Nivel del factor		Variable de respuesta
		-1	+1	
Temperatura entrada del aire (°C)	A	175	190	Rendimiento de encapsulación (%) Humedad (%)
Flujo de alimentación (mL/min)	B	40	50	
Frecuencia (rev/min)	C	50	60	

**Tabla 3***Tratamientos del análisis estadístico.*

Prueba	Temperatura	Flujo de alimentación	Frecuencia
1	190	40	50
2	190	50	50
3	190	40	60
4	190	50	60
5	182	45	55
6	182	45	55
7	175	40	50
8	175	50	50
9	175	40	60
10	175	50	60
11	182	45	55
12	182	45	55

### **Caracterización del microencapsulado optimizado.**

Las pruebas a continuación se realizaron únicamente en la muestra más óptima.

**Solubilidad.** La solubilidad del microencapsulado se determinó mediante el protocolo descrito por Saikia (2014), se tomó una muestra del polvo, se agitó la muestra en agua destilada (1:10 p / v) a temperatura ambiente durante 1 h. se centrifugó durante 10 min, se recogió el sobrenadante, se secó en una mufla y se pesó. El valor de solubilidad se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$S (\%) = \frac{\text{Masa de sobrenadante seco (g)}}{\text{masa de la muestra (g)}} * 100$$

**Higroscopicidad.** La higroscopicidad del microencapsulado se determinó mediante el protocolo de Saikia (2014), se pesó 2 g de muestra de polvo secado por aspersión y se colocó en un desecador con solución salina saturada de cloruro de sodio (humedad relativa del 75,09%) durante 7 días manteniendo una temperatura de 30°C. Finalizado el tiempo, se pesó la muestra restante y se determinó la higroscopicidad expresada en porcentaje según la fórmula (Zapata, 2019):

$$H (\%) = \frac{\text{Peso saturado} - \text{peso seco (g)}}{\text{peso seco (g)}} * 100$$

**Propiedades organolépticas.** Se evaluaron las propiedades organolépticas: olor, sabor y color del microencapsulado.

**Porcentaje de ceniza.** Se pesaron 4g de muestra en un crisol prepesado, se calcinó la muestra en una campana, utilizando un mechero, hasta que se observó que los desprendimientos de humos cesaron.

Posteriormente se llevó a la mufla por 2 h a una temperatura máxima de 550°C. Se repitió el paso anterior hasta obtener cenizas blancas o ligeramente grises y homogéneas. Se dejó enfriar y se pesó (Departamento de Alimentos de la UNAM , 2007). La cantidad de ceniza se calculó en porcentaje según la siguiente fórmula (Bolívar, 2020):

$$C(\%) = \frac{\text{Masa cenizas (g)}}{\text{Masa de muestra seca (g)}} * 100$$

**Fluidez.** Se determinó la densidad aparente ( $\rho_A$ ) colocando 1 g muestra del microencapsulado en una probeta de 10 mL y se observó el volumen que ocupa el microencapsulado.

La densidad real ( $\rho_R$ ) se calculó de la misma manera, pero como paso extra se golpeó la probeta en una superficie para que el polvo se compacte, de igual manera se observó el volumen ocupado por el microencapsulado. La densidad se calculó con la fórmula:  $\rho = \frac{m}{v}$

El índice de Carr, usualmente utilizado como indicador de fluidez de un polvo se calculó mediante la fórmula descrita en Saikia (2014).

$$CI = \frac{\rho_A - \rho_R}{\rho_A} * 100$$

### ***Caracterización en el SEM***

Mediante microscopía electrónica de barrido se observó el tamaño, forma y superficie de las micropartículas. Se utilizó el SEM de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Cada una de las muestras entregadas fue colocada sobre una capa de cinta de carbono doble faz en un portamuestra para microscopía electrónica de barrido. A continuación, las muestras fueron cubiertas con oro, para este fin se usó un evaporizador de oro Sputter Coating Quorum Q105R bajo las siguientes condiciones: 15mA y 80 mTorr por 60 segundos. Las observaciones en el SEM TESCAN MIRA 3 se realizaron con el detector de electrones secundarios (SE) + el de retrodispersados (BSE) a 5kV.

## **Capítulo 4: Resultados y discusión**

### **Caracterización del colágeno hidrolizado**

#### ***Cuantificación de proteína mediante el método de Bradford.***

En la ecuación obtenida en la curva de calibración  $y = 0,9634x + 0,0584$ , Y representa la absorbancia mientras que X representa la concentración de proteína, para obtener la concentración de colágeno hidrolizado que se muestra en la Tabla 4, se sustituyeron los valores de la absorbancia de la muestra de colágeno hidrolizado en la variable Y de la ecuación, estos cálculos se observan en el apéndice 1.

**Tabla 4**

*Concentración de colágeno hidrolizado medido en la muestra.*

<b>Absorbancia muestra colágeno (nm)</b>	<b>Concentración (mg/mL)</b>
0,2456	0,1943
0,2451	0,1941

El ensayo se realizó por duplicado, se obtuvo una media entre los dos valores de concentración, obteniendo un resultado de 0.1942 mg/mL para el valor de concentración de colágeno hidrolizado.

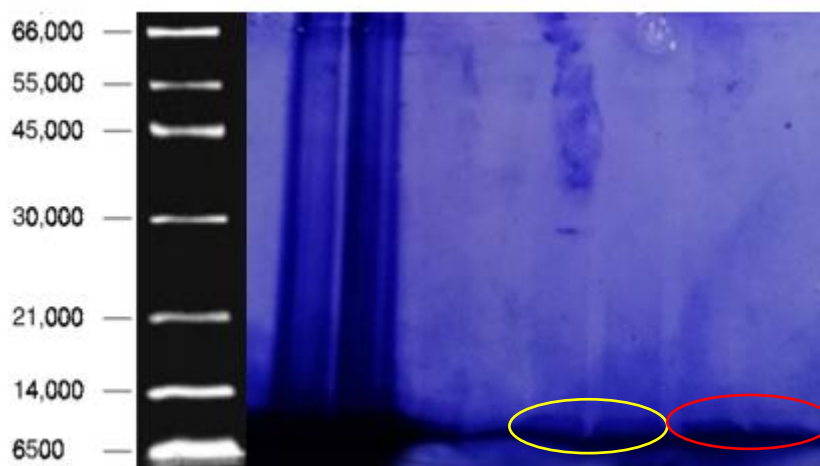
***Análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE.***

El colágeno hidrolizado tiene un peso molecular menor a 10 000 Da (Juher, 2015). En la Fig 5 se observa el análisis SDS-PAGE de las muestras de colágeno hidrolizado, las 4 bandas obtenidas se encuentran por encima de 6 500 Da y por debajo de 10 000 Da, pesos correspondientes a péptidos de colágeno hidrolizado.

Las dos bandas encerradas en un óvalo color amarillo, corresponden al colágeno hidrolizado antes de comenzar el experimento y las dos bandas siguientes, encerradas en un óvalo verde representan a las muestras posteriores al proceso, es decir, el colágeno hidrolizado una vez enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) y microencapsulado. La presencia de estas bandas comprueba que en efecto la materia prima fue colágeno hidrolizado y que este no sufrió alteraciones después de realizado el proceso de microencapsulación.

**Figura 5**

*Análisis SDS PAGE de muestras de colágeno hidrolizado y Ananas comusus (piña).*



#### **Caracterización del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña).**

El pH normal del estómago oscila entre 3,5 y 4, valores por encima de este rango se reflejan como pesadez y por debajo conlleva a una acidez estomacal (Ángela, 2006). El valor del pH medido en el colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) fue de 3.91, valor que está dentro del rango mencionado anteriormente, lo cual hace posible su ingesta diaria ya que el consumo permanente de este no alteraría el pH estomacal.

El valor estandarizado por la empresa Wildland para sus procesos de microencapsulación es de 20 Brix, el resultado de grados Brix para el colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) fue de 27, este valor fue aceptado ya que no difiere tanto al valor estandarizado.

La viscosidad medida a 25°C fue de 7.8 mPa/s, Vidal et al. (2020) en su trabajo obtuvo un valor de 10.4 mPa/s, por otro lado Benjakul et al. (2018) observó un valor de 2.06 mPa/s. El valor obtenido en este experimento se encuentra dentro del rango de los valores descritos, la diferencia se puede deber a la mezcla con pulpa de *Ananas comusus* (piña).

Las características organolépticas (color, sabor, olor) del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) se presentan en la Tabla 5.



**Tabla 5**

*Características organolépticas del colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).*

<b>Características</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Color</b>	Color ligeramente amarillo debido a la presencia de la piña.
<b>Sabor</b>	Sabor a piña bastante perceptible, opacando totalmente al sabor original de colágeno.
<b>Olor</b>	Olor ligero a piña, se presentó también un olor secundario a miel, debido posiblemente al azúcar de la fruta.

### **Microencapsulado**

#### ***Obtención de las microcápsulas por Secado a través de atomización***

Para el secado por atomización se utilizó el equipo “Spray Dryer”, marca Phamao, modelo LPG-100 de acero inoxidable, flujo continuo y capacidad de trabajo de 10L/h.

Wang (2020) en su estudio indica diversas temperaturas usadas para la encapsulación de péptidos bioactivos mediante el secado por atomización, 120°C-20°C para péptidos de pollo, 150°C - 180°C para péptidos de pescado, 140°C -200°C para otros péptidos.

Los parámetros de temperatura tomados en este estudio (175°C, 182°C y 190°C) se encuentran dentro del rango presentado en bibliografía, se tomó en cuenta también los estándares de temperatura estandarizados por la empresa, para la frecuencia y flujo de alimentación los valores empleados fueron netamente los estandarizados por la empresa. En la Tabla 6 se pueden observar los tratamientos realizados según el diseño experimental planteado, así como los valores de rendimiento y humedad que

se obtuvieron para cada uno, humedad y rendimiento son las variables de respuesta, a partir de estos datos se realizó la optimización del proceso mediante el sistema estadístico Minitab.

### **Humedad**

La humedad que se maneja en la empresa Wildland es de valores menores a 5, de la misma forma los resultados mostrados por varios autores para la humedad de productos microencapsulados oscilan en valores alrededor de 5, Saikia (2014) muestra valores entre 3.41%-5.47%, por otra parte De Paris (2016) en su estudio obtiene una humedad de 4%. Los resultados presentados en la Tabla 8 cumplen con el estándar de la empresa Wildland y son similares a los estudios sobre microencapsulación encontrados.

### **Rendimiento**

El rendimiento del proceso de microencapsulación de las muestras de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) se presentan en la Tabla 8. La prueba 4 presentó el mayor rendimiento 90.90%

**Tabla 6**

*Resultados obtenidos en los ensayos realizados previamente a la optimización.*

<b>Prueba</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Flujo de alimentación</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>
1	190	40	50	79,12	2,4
2	190	50	50	84,17	2,52
3	190	40	60	77,44	2,39
4	190	50	60	90,9	2
5	182	45	55	87,54	2,84
6	182	45	55	85,85	2,97
7	175	40	50	87,54	2,94
8	175	50	50	82,49	3,04

9	175	40	60	87,54	3,23
10	175	50	60	87,54	3,38
11	182	45	55	84,17	2,97
12	182	45	55	85,95	2,68

Una vez obtenidos los valores de humedad y rendimiento de todas las muestras evaluadas se realizó el análisis experimental para el proceso de optimización del proceso.

**Optimización de la microencapsulación: Rendimiento (%) y Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.**

Los coeficientes codificados obtenidos del análisis estadístico se presentan como valores con signo positivo y negativo, los valores con signo negativo se interpretan como una disminución de la respuesta mientras aumenta la variable (relación inversamente proporcional), el valor positivo indica que mientras la variable aumenta la respuesta así también lo hará (relación directamente proporcional).

En la tabla 7 podemos observar que las variables temperatura, temperatura\*temperatura y temperatura\* frecuencia tienen una relación inversamente proporcional con el rendimiento, mientras que el resto de variables se manejan con una relación directamente proporcional hacia este.

**Tabla 7**

*Coefficientes codificados Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>Término</b>	<b>Coef</b>	<b>EE del coef.</b>
Constante	85,770	0,670
Temperatura	-1,685	0,471
Flujo de alimentación	1,682	0,471
Frecuencia	1,263	0,471

Temperatura*Temperatura	-1,178	0,820
Temperatura*Flujo de alimentación	2,945	0,471
Temperatura*Frecuencia	-0,000	0,471
Flujo de alimentación*Frecuencia	1,683	0,471

El parámetro más importante en el proceso de secado por atomización es la frecuencia (velocidad de atomización), ya que afecta al tamaño de las gotas formadas al principio del secado. Tontul y Topuz (2017) en su revisión bibliográfica concluyeron que el aumento de la velocidad o frecuencia lugar a un mayor rendimiento, en cuanto a la temperatura los autores afirman que existen discrepancias en los resultados sobre el efecto de esta en el rendimiento del producto secado por atomización ya que en algunos estudios se informan efectos positivos, en otros efectos negativo, mientras que otros no informaron de ninguna relación, finalmente para el flujo de alimentación se informa que el aumento de este ocasiona un efecto adverso en el rendimiento del producto. Según los resultados obtenidos en este estudio la temperatura tiene un efecto negativo en el rendimiento, el flujo de alimentación presenta un efecto positivo, estos resultados difieren a lo mencionado anteriormente y pueden deberse a la combinación de parámetros utilizados en esta investigación. La relación entre frecuencia y rendimiento concuerdan con la bibliografía.

Para el análisis de humedad se observa en la tabla 8 que a excepción de la frecuencia el resto de variables presentan una relación inversamente proporcional a esta.

**Tabla 8**

*Coefficientes codificados Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>Término</b>	<b>Coef</b>	<b>EE del coef.</b>
Constante	2,8808	0,0589
Temperatura	-0,4100	0,0414

Flujo de alimentación	0,0025	0,0414
Frecuencia	0,0125	0,0414
Temperatura*Temperatura	-0,1433	0,0721
Temperatura*Flujo de alimentación	-0,0650	0,0414
Temperatura*Frecuencia	-0,1450	0,0414
Flujo de alimentación*Frecuencia	-0,0575	0,0414

---

El flujo de alimentación influye negativamente en la humedad del producto final. Un mayor flujo de alimentación aumenta el tamaño de las gotas formadas y reduce el tiempo de contacto entre estas y el aire de secado, originando una menor evaporación del agua en la gota, es decir, aumentando la humedad (Tontul y Topuz, 2017). Los resultados obtenidos en la tabla 8 muestran que el flujo de alimentación presenta una relación directamente proporcional a la humedad.

Ávila et al. (2014) en su estudio informaron que el aumento de la frecuencia da como resultado una gota más pequeña y así se produce una mayor superficie de secado lo cual aumenta la eficiencia de la transferencia de calor y masa y acorta el camino de difusión del agua en las gotas. Es así que al aumentar la frecuencia el contenido de humedad de los polvos finales disminuye. En los resultados mostrados en la tabla 8 del presente estudio se puede evidenciar que la relación entre frecuencia y humedad es directamente proporcional, resultados que no concuerdan con la bibliografía consultada, esto puede deberse a la combinación de variables como la temperatura o flujo de alimentación.

Tontul y Topuz (2017) en su artículo informan que generalmente el aumento de la temperatura de entrada da lugar a un menor contenido de humedad del producto, ya que se genera una mayor energía al medio de secado y aumenta la transferencia de calor. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8 y concuerdan con lo mencionado anteriormente.

En la tabla 9 se observa un valor de 95.61% para R-cuadrado y un valor de 87.93% para R-cuadrado (ajustado), demostrando así un buen ajuste del modelo para los datos analizados.

**Tabla 9**

*Resumen del modelo experimental Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>R-cuadrado</b>	<b>R-cuadrado(ajustado)</b>
95,61%	87,93%

En la tabla 10 se observa un valor de 96.78% para R-cuadrado y un valor de 91.16% para R-cuadrado (ajustado), demostrando así un buen ajuste del modelo para los datos analizados.

**Tabla 10**

*Resumen del modelo experimental Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>R-cuadrado</b>	<b>R-cuadrado(ajustado)</b>
96,78%	91,16%

El valor p muestra la asociación entre la respuesta y las variables, esta es estadísticamente significativa cuando el valor p es menor a 0.05. En la tabla 11 podemos observar el valor p para cada una de las variables y su interacción en el análisis de rendimiento, las variables significativas son: temperatura, flujo de alimentación, temperatura\*flujo de alimentación y flujo de alimentación\*frecuencia. En la tabla 12 se observan las variables y su interacción en el análisis de humedad las variables significativas son: temperatura, temperatura\*frecuencia. Estos resultados se pueden visibilizar también mediante los diagramas de Pareto mostrados en la Fig 5 y Fig 6 para rendimiento y humedad, respectivamente.

**Tabla 11**

*Análisis de Varianza Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>Valor p</b>
<b>Modelo</b>	7	154,545	0,014
<b><i>Lineal</i></b>	3	58,112	0,021
Temperatura	1	22,714	0,023
Flujo de alimentación	1	22,646	0,023
Frecuencia	1	12,751	0,055
<b><i>Cuadrado</i></b>	1	3,662	0,224
Temperatura*Temperatura	1	3,662	0,224
<b><i>Interacción de 2 factores</i></b>	3	92,031	0,009
Temperatura*Flujo de alimentación	1	69,384	0,003
Temperatura*Frecuencia	1	0,000	1,000
Flujo de alimentación*Frecuencia	1	22,646	0,023
<b>Error</b>	4	7,097	
Falta de ajuste	1	1,411	0,452
Error puro	3	5,685	
<b>Total</b>	11	161,642	

**Tabla 12**

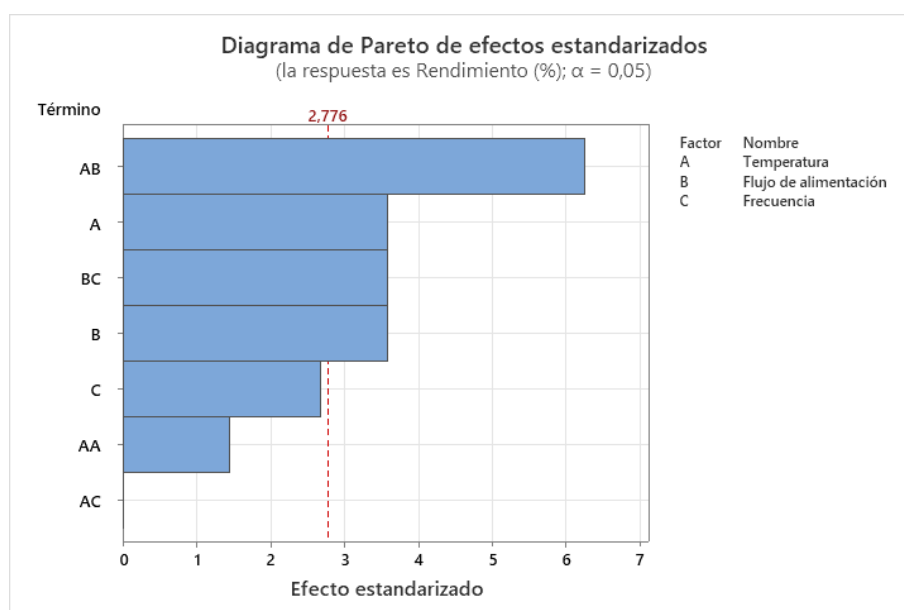
*Análisis de Varianza Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>Valor p</b>
<b>Modelo</b>	7	1,65162	0,008
<b><i>Lineal</i></b>	3	1,34610	0,003

Temperatura	1	1,34480	0,001
Flujo de alimentación	1	0,00005	0,955
Frecuencia	1	0,00125	0,778
<b>Cuadrado</b>	1	0,05420	0,118
Temperatura*Temperatura	1	0,05420	0,118
<b>Interacción de 2 factores</b>	3	0,22845	0,066
Temperatura*Flujo de alimentación	1	0,03380	0,192
Temperatura*Frecuencia	1	0,16820	0,025
Flujo de alimentación*Frecuencia	1	0,02645	0,237
<b>Error</b>	4	0,05488	
Falta de ajuste	1	0,03920	0,071
Error puro	3	0,01568	
<b>Total</b>	11	1,70649	

**Figura 6**

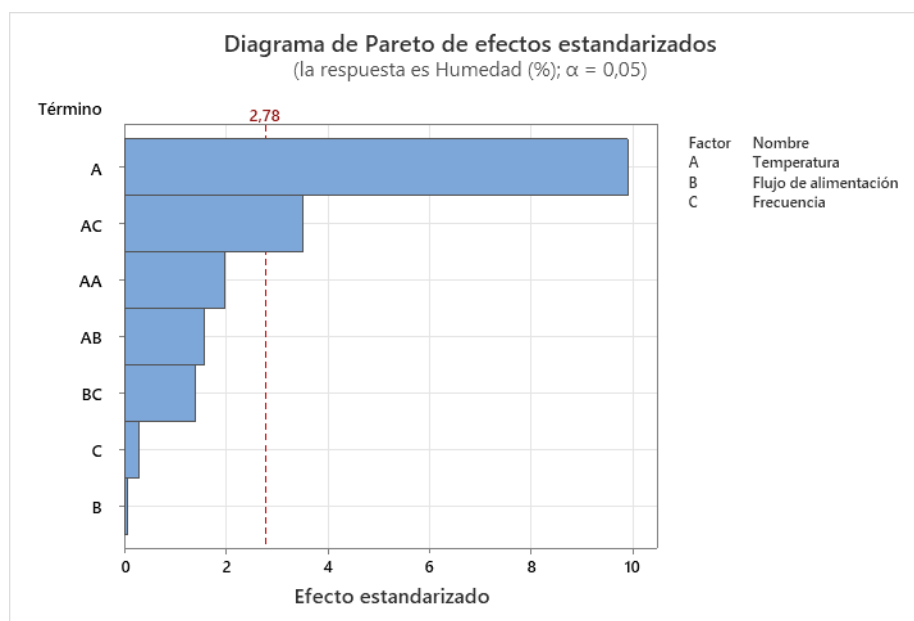
*Diagrama de Pareto Rendimiento (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*





**Figura 7**

*Diagrama de Pareto Humedad (%) vs. Temperatura; Flujo de alimentación; Frecuencia.*



Las siguientes ecuaciones reflejan el diseño estadístico analizado para el rendimiento y humedad, los valores en negrita son aquellas variables que muestran una significancia.

Rendimiento (%) = 212+ **3,88 Temperatura**- **17,70 Flujo de alimentación**- 2,78 Frecuencia-

0,0209 Temperatura\*Temperatura+ **0,0785 Temperatura\*Flujo de alimentación** +

0,0000 Temperatura\*Frecuencia + **0,0673 Flujo de alimentación\*Frecuencia**

Humedad (%) = -130,8 + **1,166 Temperatura** + 0,442 Flujo de alimentación + 0,812 Frecuencia -

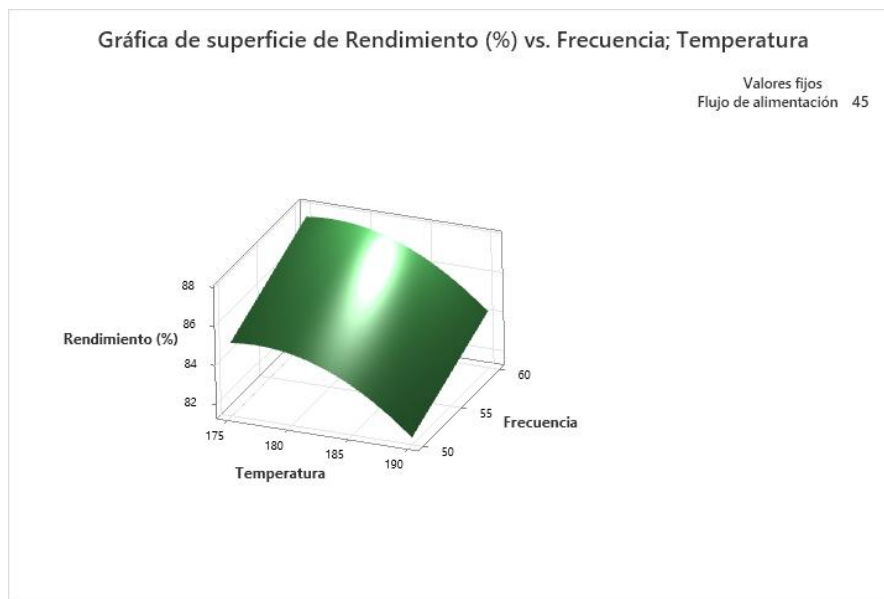
0,00255 Temperatura\*Temperatura - 0,00173 Temperatura\*Flujo de alimentación -

**0,00387 Temperatura\*Frecuencia** - 0,00230 Flujo de alimentación\*Frecuencia

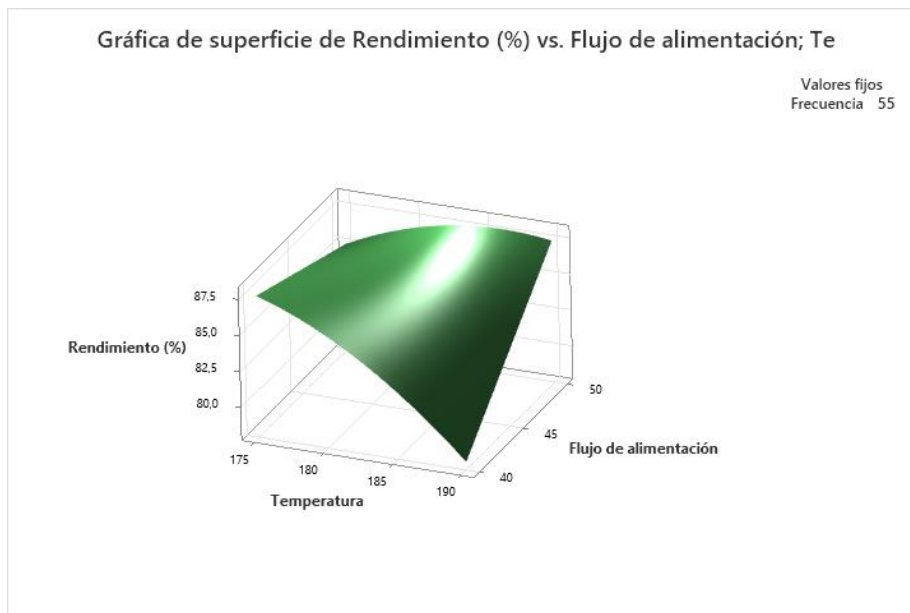
Los gráficos de superficie de respuesta para el análisis de rendimiento se pueden observar para rendimiento vs frecuencia y temperatura en la Fig 6, para rendimiento vs flujo de alimentación y temperatura en la Fig 7 y para rendimiento vs frecuencia y flujo de alimentación en la Fig 8.

**Figura 8**

*Superficie de respuesta para rendimiento vs frecuencia y temperatura.*

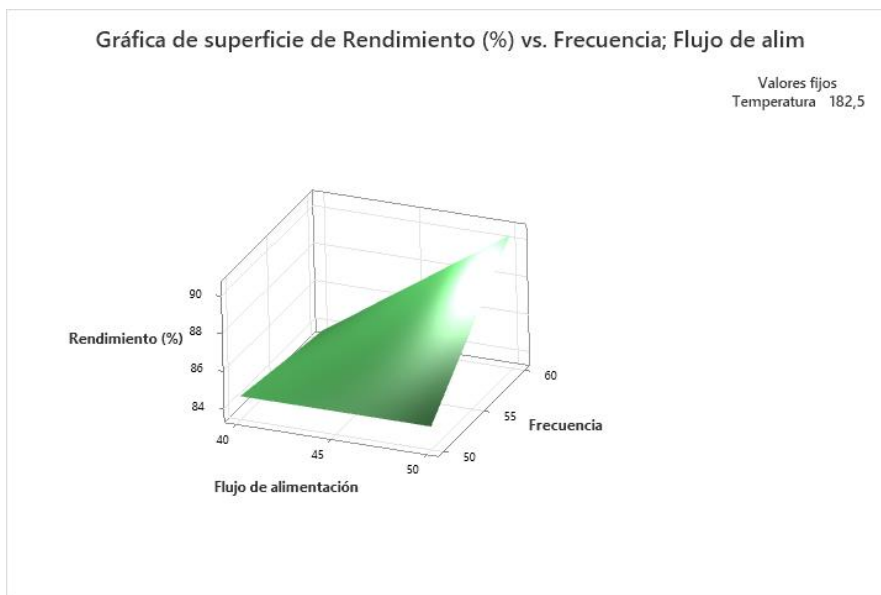
**Figura 9**

*Superficie de respuesta para rendimiento vs flujo de alimentación y temperatura.*



**Figura 10**

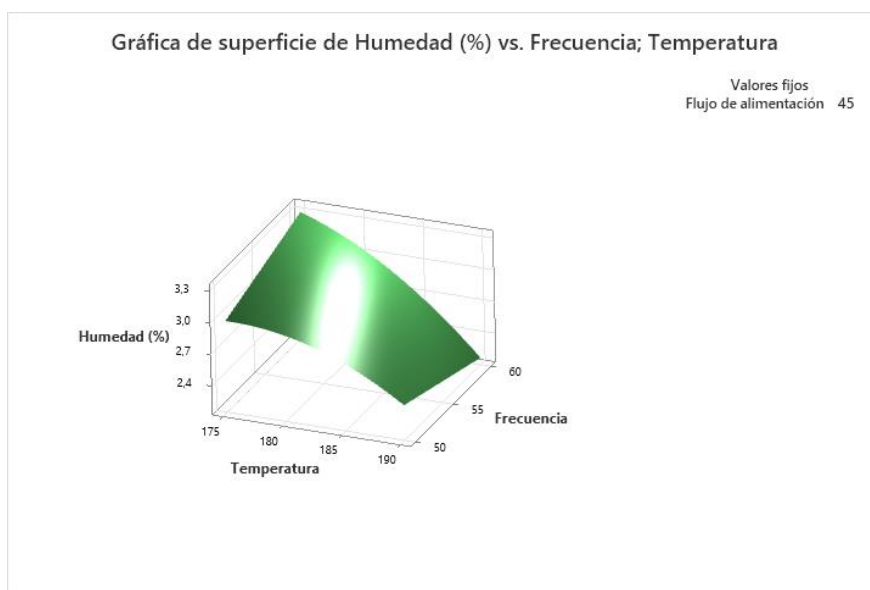
*Superficie de respuesta para rendimiento vs frecuencia y flujo de alimentación.*



Los gráficos de superficie de respuesta para el análisis de humedad se pueden observar para humedad vs frecuencia y temperatura en la Fig 9, para humedad vs flujo de alimentación y temperatura en la Fig 10 y para humedad vs frecuencia y flujo de alimentación en la Fig 11.

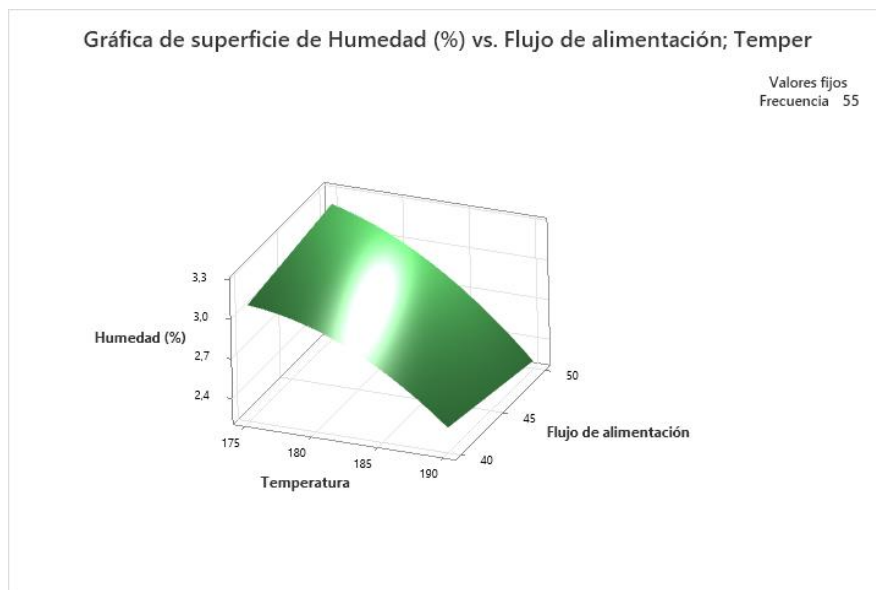
**Figura 11**

*Superficie de respuesta para humedad vs frecuencia y temperatura.*

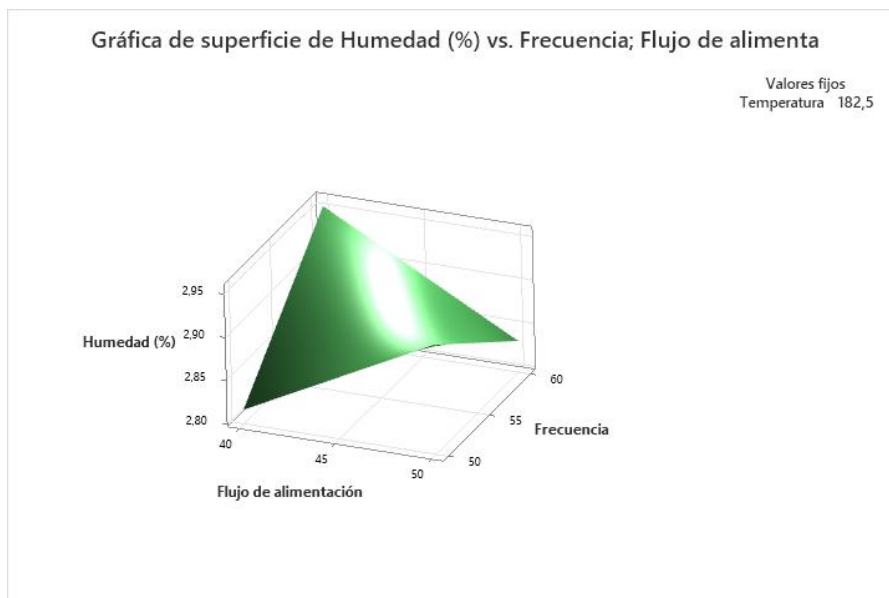


**Figura 12**

*Superficie de respuesta para humedad vs flujo de alimentación y temperatura.*

**Figura 13**

*Superficie de respuesta para humedad vs frecuencia y flujo de alimentación*



### ***Solución Optimización: Humedad (%); Rendimiento (%)***

En la tabla 13 se observan los parámetros utilizados por el programa Minitab para poder realizar el proceso de optimización.

**Tabla 13**

*Parámetros para el proceso de optimización.*

<b>Respuesta</b>	<b>Meta</b>	<b>Inferior</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Superior</b>	<b>Ponderación</b>	<b>Importancia</b>
Humedad (%)	Mínimo		1,0	3,38	1	1
Rendimiento (%)	Máximo	77,44	90,9		1	1

La solución de la optimización realizada por el programa Minitab se observa en la tabla 14, se obtuvo un rendimiento de 90.48% y una humedad de 2.07% con una deseabilidad compuesta de 0.96 aproximadamente, lo cual demuestra que el proceso realizado y los resultados obtenidos son de gran confiabilidad.

**Tabla 14**

*Solución del proceso de optimización.*

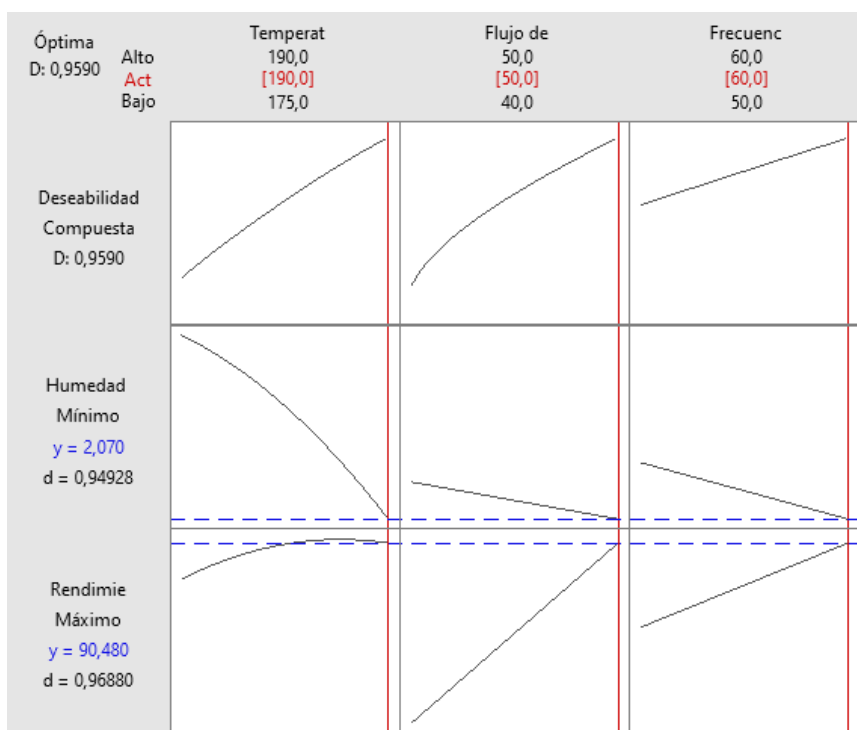
<b>Solución</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Flujo de alimentación</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Humedad (%) Ajuste</b>	<b>Rendimiento (%) Ajuste</b>	<b>Deseabilidad compuesta</b>
1	190	50	60	2,07	90,48	0,958986

### ***Predicción de respuesta múltiple***

En la Fig 12 se puede observar la respuesta múltiple de todas las variables evaluadas (temperatura, frecuencia, flujo de alimentación) en relación a las variables de respuesta (rendimiento y humedad).

Figura 14

Respuesta múltiple de las variables evaluadas.



### Caracterización del microencapsulado optimizado.

#### Solubilidad

En bibliografía se encuentran algunos estudios acerca de solubilidad, Saikia (2014) en su estudio obtuvo valores en un rango de 57.57 a 76.75%, por otro lado Mad-Ali (2016) en su investigación presenta una solubilidad del 90% para su producto. La solubilidad encontrada en la muestra obtenida mediante el proceso de microencapsulación optimizado fue de un 80%, porcentaje dentro del rango de los dos estudios mencionados, es así que el valor de solubilidad en esta investigación es óptimo para el producto microencapsulado.

$$S (\%) = \frac{\text{Masa de sobrenadante seco (g)}}{\text{masa de la muestra (g)}} * 100$$

$$S (\%) = \frac{1.6g}{2g} * 100$$

$$S (\%) = 80$$

### **Higroscopicidad**

La higroscopicidad calculada en el experimento dio como resultado un valor de 10,80%. Valores variados han sido reportados en bibliografía: 1,29 a 9,82 % es el porcentaje obtenido por Velásquez (2019) en su estudio, mientras que Saikia (2014) presentó valores de 11.63 a 11.99%. Cuando se obtiene un valor menor al 10% se puede considerar que el polvos no es higroscópico (Sidaoui, 2011). El valor que se obtuvo en la medición de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) supera el 10%, lo cual clasifica como polvo higroscópico, aun así, encuentra dentro del rango observado en los estudios antes mencionados, razón por la cual se puede decir que la higroscopicidad presente en la muestra es la adecuada.

$$H (\%) = \frac{2.216 - 2 (g)}{2 (g)} * 100$$

$$H (\%) = \frac{(g)}{(g)} * 100$$

$$H (\%) = 10.80$$

### **Propiedades organolépticas**

Las propiedades organolépticas: olor, sabor y color del microencapsulado se presentan en la tabla 15.

**Tabla 15**

*Características organolépticas del microencapsulado optimizado de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de Ananas comusus (piña).*

<b>Características</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Color</b>	Color amarillo tenue debido a la presencia de la piña.
<b>Sabor</b>	No se presenta un sabor original a colágeno. Sabor a piña bastante perceptible

**Olor**

Olor ligero a colágeno, se presentó también un olor secundario a piña.

**Porcentaje de ceniza**

El porcentaje de ceniza que se obtuvo al realizar el ensayo fue de 2.5 %. Según la ficha técnica para colágeno hidrolizado de la empresa (Coquin) (s.f) el porcentaje de ceniza del colágeno hidrolizado es menor a 2%, el valor que en este experimento se obtuvo es levemente mayor al parámetro.

$$C(\%) = \frac{\text{Masa ceniza (g)}}{\text{Masa de muestra seca (g)}} * 100$$

$$C(\%) = \frac{0.10 \text{ (g)}}{4 \text{ (g)}} * 100$$

$$C(\%) = 2.5$$

**Fluidez**

Se determinaron las densidades  $\rho_A$  y  $\rho_R$ , con valores 0.22 y 0.20 respectivamente

$$\rho_A = \frac{m}{v} = \frac{5.5\text{g}}{25\text{mL}} = 0.22$$

$$\rho_R = \frac{m}{v} = \frac{5\text{g}}{25\text{mL}} = 0.20$$

El índice de Carr obtenido en la prueba fue de 9.09, comparando este valor con los presentados en la Tabla 1, en la cual se describen los parámetros para este ensayo, se puede observar que dicho valor corresponde a una fluidez excelente.

$$CI = \frac{\rho_A - \rho_R}{\rho_A} * 100$$

$$CI = \frac{0.22 - 0.2}{0.22} * 100$$

$$CI = 9.09$$

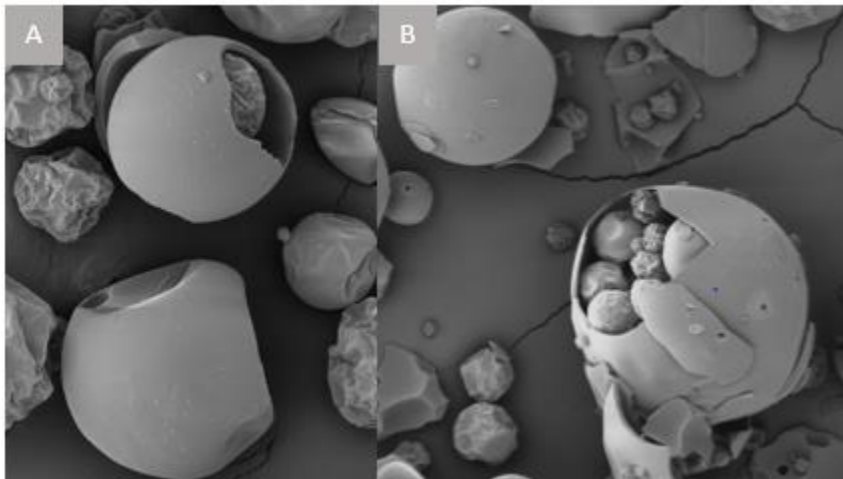


### **Caracterización en el SEM**

Cai y Corke (2000) en su estudio señalan que los tamaños de las partículas secadas por atomización oscilan entre 5  $\mu\text{m}$  y 40  $\mu\text{m}$  aproximadamente, muestran una forma esférica de diferentes tamaños. con una superficie lisa, sin grietas ni fisuras. El tamaño polidisperso es un rasgo característico de las partículas secadas por pulverización y se debe al material utilizado en la formulación y el proceso de atomización, algunas de las partículas encapsuladas con maltodextrina suelen estar rotas (Burhan et al., 2019). En la figura 13 se pueden observar las imágenes tomadas mediante SEM de las microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con *Ananas comusus* (piña), estas presentaron una forma esférica y superficie lisa con un tamaño promedio de 30.57  $\mu\text{m}$ , medidas con el software Fiji. Se observaron algunas microcápsulas rotas.

### **Figura 15**

*Imágenes SEM de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con Ananas comusus (piña).*



Nota: A) microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con *Ananas comusus* (piña). B) Visualización del contenido de la microcápsula (colágeno hidrolizado y piña).

## Capítulo 5: Conclusiones

El colágeno hidrolizado es un componente que ayuda a que el cuerpo se mantenga sano, la piña aporta con un gran contenido de vitamina C, vitamina fundamental para la síntesis de colágeno y portadora de algunas otras propiedades, al estar mezclados estos dos componentes en un solo producto se potencian los beneficios de cada uno y se genera un producto de gran valor industrial.

En este estudio se pudo obtener microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria con un rendimiento del proceso inicial del 90.90% y humedad de 2%.

Se determinaron también los parámetros óptimos para poder estandarizar el proceso para las futuras producciones, siendo los parámetros más óptimos los siguientes: Temperatura de 190 °C, flujo de 50(mL/min) y Frecuencia de 60 Hz, obteniendo con estos un rendimiento de 90.48% y humedad de 2.07, los datos no difieren tanto a los valores obtenidos antes de la optimización, ya que los parámetros fueron los mismos, el programa estadístico al realizar esta optimización debió obtener un rendimiento y humedad igual a la inicial, pero los programas estadísticos siempre poseen un valor de error, al realizar la prueba final, utilizando los parámetros optimizados se tuvo un rendimiento de 90,70% y humedad de 2.03%, se puede concluir entonces que el análisis estadístico (optimización) sirvió como una prueba de comprobación para saber que el proceso está optimizado al máximo posible y su aplicación brindará excelentes resultados .

Se evaluó la calidad de las microcápsulas según indicadores sensoriales (olor, sabor, color, viscosidad) y pruebas tecnológicas, al realizar los ensayos se obtuvieron valores para humedad: 2.03%, solubilidad: 80%, porcentaje de ceniza: 2.5%, higroscopicidad: 10.80% y fluidez: 9.09%, los cuales se encuentran dentro de rangos reflejados en varios estudios similares, se concluye entonces que el producto es de muy buena calidad y está listo para ser generado en gran escala.

## Capítulo 6: Recomendaciones

Este trabajo está orientado a la elaboración de un producto para el mejoramiento de la salud del ser humano, en la actualidad existen infinidad de componentes naturales que exhiben diversas propiedades orientadas al mejoramiento de la salud del ser humano, se podrían realizar estudios futuros sobre diferentes componentes que puedan enriquecer el producto y darle un aporte nutricional mayor.

En cuanto a la optimización del proceso, algunos autores en bibliografía mencionan que al obtener un rendimiento de un 80 a 90% en algún procedimiento no es necesario el proceso de optimización, ya que es posible que no se obtengan mayores resultados y si es así no serían significativos, en este estudio sin embargo se realizó como comprobación de los resultados ya obtenidos, pero no es estrictamente necesario.

Finalmente, en la parte del proceso secado por atomización es necesario dejar calentar muy bien el equipo y empezar por los tratamientos que tengan la mayor temperatura, ya que así es más fácil el control de este, a partir de esto los demás parámetros pueden ser ajustados.

## Apéndices

### Apéndice A

#### ***Cálculos determinar la concentración de la muestra de colágeno hidrolizado:***

Absorbancia 1° dilución de la muestra = 0,2456 nm

$$0,2456 = 0,9634x + 0,0584$$

$$x = \frac{0,2456 - 0,0584}{0,9634}$$

$$x = 0,1943 \text{ mg/mL}$$

Absorbancia 2° dilución de la muestra = 0,2451 nm

$$0,2451 = 0,9634x + 0,0584$$

$$x = \frac{0,2451 - 0,0584}{0,9634}$$

$$x = 0,1941 \text{ mg/mL}$$

### Tabla 16

*Medición de la absorbancia de albúmina sérica bovina (BSA).*

Concentración de BSA (mg/mL)	Abs medida (590nm)
0	0
0,2	0,3071
0,4	0,4367
0,6	0,6749
0,8	0,8419
1	0,9802

## Bibliografía

- Ángela, B. (2006). Acidez gástrica. *Elsevier*, 46-51.
- Ávila, M. (02 de 2018). *Pubmed*. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29144022/>
- Barretto, L. C. (2013). Characterization and extraction of volatile compounds from pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) processing residues. *Food Science and Technology*, 638-645.
- Beltrán, F. (2017). *DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE*. Chile.
- Bolívar, G. (11 de 02 de 2020). *Lifeder*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/determinacion-de-cenizas/>
- Borbón, J. (04 de 02 de 2016). *Severaflor*. Obtenido de <https://severaflor2.blogspot.com/2016/02/historia-de-la-pina.html>
- Burhan et al., A. M.-H. (2019). Optimization of the Microencapsulation of Lavender Oil by Spray Drying. *Journal of Microencapsulation*, 1–42.
- Byjus. (2022). Obtenido de <https://byjus.com/biology/sds-page/>
- C. Araneda, F. V. (2009). *Scopus*. Obtenido de <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85053076100&origin=inward&txGid=a68a94a7c870fc8b202a87fd04117068>
- Cai y Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 1248–1252.
- Chau Chi-Fai, Y.-T. L. (2007). Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chemistry*, Pages 1402-1408.
- Cheng et al., Y. H. (2016). Rapid method for protein quantitation by Bradford assay after elimination of the interference of polysorbate 80. *Analytical Biochemistry*, 37-39.
- CITE. (2018). Microencapsulación para la conservación y extensión de vida útil de alimentos. *Cite agroindustrial*, 21.
- Coquin. (s.f.). *Coquin*. Obtenido de FICHA TÉCNICA COLÁGENO HIDROLIZADO: [https://coquinperu.com/imagenes/productos/pdf/hseg\\_41.pdf](https://coquinperu.com/imagenes/productos/pdf/hseg_41.pdf)
- Cuellas. (2017). Microencapsulación de ingredientes en la industria de alimentos. *ciencia y sociedad*.
- Darío, L. H. (2008). Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*.
- De Paris, J. C. (01 de 2016). *ResearchGate*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/293014653\\_Production\\_and\\_spray\\_drying\\_of\\_protein\\_hydrolyzate\\_obtained\\_from\\_tilapia\\_processing\\_by-products](https://www.researchgate.net/publication/293014653_Production_and_spray_drying_of_protein_hydrolyzate_obtained_from_tilapia_processing_by-products)

- De Paris, L. (2016). *Production and spray drying of protein hydrolyzate obtained from tilapia processing by-products*. Brasil.
- Departamento de Alimentos de la UNAM . (2007). Fundamentos y Técnicas de análisis de alimentos .  
*DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA* .
- Dhakala, S. P., & Jibin, H. (11 de 2020). *Microencapsulation of Vitamins in Food Applications to Prevent Losses in*. Obtenido de ScienceDirect:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996920303513?via%3Dihub>
- Dias, M. I.-F.-B.-M. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. *Food & Function*.
- Díaz, Y. L. (2017). *Scielo*. Obtenido de [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642017000600004](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642017000600004)
- Ernst, O., & Zor, T. (2010). Linearization of the Bradford Protein Assay. *Journal of Visualized Experiments*.
- Esteban Largo Ávila, M. C. (2014). Influence of Maltodextrin and Spray Drying Process Conditions on Sugarcane Juice Powder Quality. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 7509-7520.
- Fabela. (07 de 2017). *Researchgate*. Obtenido de  
[https://www.researchgate.net/publication/336748770\\_SECADO\\_POR\\_ASPERSION](https://www.researchgate.net/publication/336748770_SECADO_POR_ASPERSION)
- Favaro. (04 de 06 de 2010). *sciencedirect*. Obtenido de  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X09002161>
- Favaro, C. A. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 336-340.
- Ferreira, A. M. (2012). Collagen for bone tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*, 3191-3200.
- García. (02 de 03 de 2021). *Sabrosía*. Obtenido de <https://www.sabrosia.pr/comida-saludable/2021/03/02/naranja-mandarina-pina-frutas-vitamina-c.html>
- García, G. M. (2004). Microencapsulación del jugo de cebada verde mediante secado por aspersion. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 262-266.
- Gharsallaoui, A. G. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 1107-1121.
- GME. (2020). *GME*. Obtenido de <https://www.gelatine.org/es/peptidos-de-colageno/historia.html>
- Gómez, D. (2018). Nanotecnología en la Industria Alimentaria. *SENNOVA*.
- Guevara, B., & Quispe, B. (2019). Optimización del proceso de microencapsulación de aceite de palta obtenido por CO2 supercrítico. . *Universidad Nacional del Centro del Perú, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias*.

- jarrin, gjhj, vbgfc, & fbvc. (2015).
- Jebur, A. B.-F.-D.-W. (2020). Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. *Bromelain from Ananas comosus stem attenuates oxidative toxicity and*.
- Jinapong, N. (2007). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Elsevier*, 194-205.
- Juher, T. F.-E. (2015). Revisión de los efectos beneficiosos de la ingesta de colágeno hidrolizado. *Nutrición hospitalaria*, 62-66.
- Lin et al. (01 de 05 de 2019). *Collagen Extracted from Bigeye Tuna (Thunnus obesus) Skin by Isoelectric Precipitation: Physicochemical Properties, Proliferation, and Migration Activities*. Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6562556/>
- Lino, E. (2012). "INFLUENCIA DE ENCAPSULANTES: GOMA ARÁBICA Y. Perú.
- Lino, E. J. (2012). INFLUENCIA DE ENCAPSULANTES: GOMA ARÁBICA Y MALTODEXTRINA EN LOS FITOQU(MICOS DE LA COCONA(Solanum sessiliflorum Dunal) ECOTIPO T-2 LIOFILIZADO.
- Lopera, S. (2008). *DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE*. Colombia.
- López, H. y. (2008). *Scielo*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152008000300010&Ing=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152008000300010&Ing=es).
- Lu, Q. K. (2004). Novel porous aortic elastin and collagen scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*, 5227-5237.
- Madene, S. y. (2006). Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 1-21.
- Mahanta, S. S. (2014). Effect of Spray Drying of Four Fruit Juices on Physicochemical, Phytochemical and Antioxidant Properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1656-1664.
- Maimunah et al. (2020). Pineapple (Ananas comosus): A comprehensive review of nutritional values,volatile compounds, health benefits, and potential food products. *Food Research International*.
- Maimunah, N. H. (17 de 09 de 2020). *Elsevier*. Obtenido de Pineapple (Ananas comosus): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products.: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996920307006?via%3Dihub>
- MedlinePlus. (16 de 09 de 2021). *MedlinePlus*. Obtenido de <https://medlineplus.gov/spanish/genetica/entender/comofuncionangenes/proteina/>

- Mohd Ali M, H. N. (27 de 09 de 2020). *Elsevier*. Obtenido de Pineapple (Ananas comosus): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products. : [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963-9969\(20\)30700-6](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963-9969(20)30700-6)
- Montes, E. C. (2007). Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuya (*Passiflora edulis*). *Revista Temas Agrarios* , 5-12.
- Muller, D. (04 de 2020). *mssm*. Obtenido de <https://mssm-ghc.org/vitamina-c-y-colageno/>
- Nazzaro et al. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *ScienceDirect*, 182-186.
- Nutricioni. (12 de 04 de 2019). Obtenido de Nutricioni: <https://nutricioni.com/colageno-cuantas-capsulas-debo-tomar-al-dia/>
- Orozco, H. G. (2013). *FORMULACIÓN, ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE HAMBURGUESA CON CARNE DE RES Y CERDO DESHIDRATADA Y DETERMINACIÓN DE LAS INSTRUCCIONES PARA SU REHIDRATACIÓN Y USO*. Obtenido de <https://1library.co/document/yr30o9oy-formulacion-elaboracion-control-hamburguesas-deshidratada-determinacion-instrucciones-rehidratacion.html>
- Palzer, S. (2009). Review: Food structures for nutrition, health and wellness. . *Trends in Food Science and Technology*, 194-200.
- Parra, R. (2009). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472009000100021&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472009000100021&script=sci_abstract)
- Parra, R. (2009). *Scielo*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472009000100021&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-28472009000100021&script=sci_abstract)
- Parra, R. (2010). Revisión: Microencapsulación de alimentos . *Facultad Nacional de Agronomía de Medellín* , 5669-5684.
- Parzanese, M. (2010). Tecnologías para la industria alimentaria . *Alimentos Argentinos* .
- Peptan. (2020). *Peptan*. Obtenido de <https://www.peptan.com/es/historia/>
- Pérez, J. (2017). *OBTENCIÓN DE POLVO DESHIDRATADO DE GUANÁBANA MEDIANTE SECADO POR ATOMIZACIÓN*. Quito.
- Rahman, M. A. (14 de 02 de 2019). Collagen of Extracellular Matrix from Marine Invertebrates and its Medical Applications. *Marine drugs vol. 17*, 118. Obtenido de Rahman, M Azizur. "Collagen of Extracellular Matrix from Marine Invertebrates and Its Medical Applications." *Marine drugs vol. 17*, 2 118. 14 Feb. 2019, doi:10.3390/md17020118.
- Ricard, S. (03 de 01 de 2011). *The Collagen Family*. Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3003457/>



- Saikia. (2015). *Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614012795?via%3Dihub>
- Saikia, N. K. (11 de 2014). *ResearchGate*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/266621638\\_Effect\\_of\\_Spray\\_Drying\\_of\\_Four\\_Fruit\\_Juices\\_on\\_Physicochemical\\_Phytochemical\\_and\\_Antioxidant\\_Properties](https://www.researchgate.net/publication/266621638_Effect_of_Spray_Drying_of_Four_Fruit_Juices_on_Physicochemical_Phytochemical_and_Antioxidant_Properties)
- Salazar, J. &. (2019). *Ingeniería de detalle para una planta de secado por atomización de pulpa de frutas*. Quito.
- Santos, A. C. (20 de 12 de 2017). *intechopen*. Obtenido de <https://www.intechopen.com/books/biomaterials-physics-and-chemistry-new-edition/spray-drying-an-overview#B2>
- Scai. (2016). *Microscopía Electrónica de Barrido*. Obtenido de <https://www.scai.uma.es/areas/micr/sem/sem.html>
- Schoof, H. J. (2001). Control of Pore Structure and Size in Freeze-Dried Collagen Sponges. *Journal of Biomedical Materials Research*, 352-357.
- Serrano, J. C. (2011). *Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteado de tilapia (Oreochromis sp) y cachama (Piaractus brachypomus)*. Obtenido de Repositorio Unal: [https://www.academia.edu/31552548/Jenifercarolinaserranogaona?pop\\_sutd=false](https://www.academia.edu/31552548/Jenifercarolinaserranogaona?pop_sutd=false)
- Sidaoui, P. (2011). *LAS 7 PROPIEDADES DE LOS POLVOS QUE DEBES CONOCER*. Obtenido de Palamatic Process: <https://www.palamaticprocess.es/blog/las-7-propiedades-de-los-polvos-que-debes-conocer>
- Sootawat Benjakul, K. C. (2018). Impact of retort process on characteristics and bioactivities of herbal soup based on hydrolyzed collagen from seabass skin. *Journal of Food Science and Technology*, 3779–3791.
- Sorushanova, D. L. (20 de 07 de 2018). *Pubmed*. Obtenido de The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development.: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30126066/>
- Sorushanova, D. L. (20 de 07 de 2018). *Pubmed*. Obtenido de The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development.: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30126066/>
- Sulaiman Mad-Ali, S. B. (2016). Characteristics and gel properties of gelatin from goat skin as affected by spray drying. *Drying Technology*, 218-226.
- Tontul y Topuz, .. (2017). Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends in Food Science & Technology*, 91-102. Obtenido

de [https://www.researchgate.net/publication/315766787\\_Spray-drying\\_of\\_fruit\\_and\\_vegetable\\_juices\\_Effect\\_of\\_drying\\_conditions\\_on\\_the\\_product\\_yield\\_and\\_physical\\_properties](https://www.researchgate.net/publication/315766787_Spray-drying_of_fruit_and_vegetable_juices_Effect_of_drying_conditions_on_the_product_yield_and_physical_properties)

- Troya, D. (2018). *MICROENCAPSULACIÓN DE LOS CAROTENOIDES CONTENIDOS EN EL TAXO (Passiflora tripartita var. mollisima), MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN*. Quito.
- Ubu. (2020). *Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)*. Obtenido de Universidad de Burgos: <https://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico-tecnicos/microscopia/microscopia-electronica-de-barrido-meb>
- Unizar. (2017). Obtenido de [https://ppcta.unizar.es/sites/ppcta.unizar.es/files/users/ARCHIVOS/Videos\\_y\\_otros/Documentos/PRACTICAS\\_ANALISIS/practica\\_1\\_humedad.pdf](https://ppcta.unizar.es/sites/ppcta.unizar.es/files/users/ARCHIVOS/Videos_y_otros/Documentos/PRACTICAS_ANALISIS/practica_1_humedad.pdf)
- Vallejo, P. (2019). *Microencapsulación del micronutriente hierro mediante secado por atomización*. Quito.
- VELÁSQUEZ, F. F. (2019). Obtención y aplicación de almidones modificados por esterificación(osa) a partir de almidones nativos provenientes de tubérculos andinos. *Universidad Nacional Agraria*.
- Vidal, A. R. (2020). Extraction and characterization of collagen from sheep slaughter byproducts. *Waste Management*, 838-843.
- Wandrey, C. (2010). *University of Nottingham*. Obtenido de Encapsulation technologies for active food ingredients: , <http://www.nottingham.ac.uk/>
- Wang, Y. (2020). Spray drying strategy for encapsulation of bioactive peptide powders for food applications. *Elsevier*, 409-415. Obtenido de Spray drying strategy for encapsulation of bioactive peptide powders for food applications.
- Winkler. (2017). *Kit para determinación de proteínas*. Obtenido de <http://winklerltda.cl/quimicav2/wp-content/uploads/2017/04/kit-proteinas-bradfor.pdf>
- Yáñez, J. (04 de 2005). *Researchgate*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/271836989\\_Aplicaciones\\_biotecnologicas\\_de\\_la\\_microencapsulacion](https://www.researchgate.net/publication/271836989_Aplicaciones_biotecnologicas_de_la_microencapsulacion)
- Yañez, J. J. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva*, 313-319.
- Yeung P, C. K. (28 de 08 de 2019). *PMC*. Obtenido de Collagen microsphere based 3D culture system for human osteoarthritis chondrocytes (hOACs). : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6713750/#>
- Zapata, F. (25 de 11 de 2019). *Lifeder*. Obtenido de <https://www.lifeder.com/higroscopicidad/>