

Optimización de Microcápsulas de Antocianinas y Maltodextrina por Liofilizado

Resumen: El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de encapsulación y almacenamiento de pigmentos antocianos en microcápsulas de maltodextrina (MD) obtenidas por liofilización. Las frutillas fueron acondicionadas, trituradas, escaldadas y centrifugadas. Con el jugo obtenido se prepararon tres muestras con distintas concentraciones de MD (30, 35 y 40 %). Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente estabilizadas a 22 °C, en diferentes condiciones de humedades relativas, obteniendo las isotermas de adsorción de agua. Al mismo tiempo, se caracterizó la presencia de antocianinas en cada una de las condiciones. Se identificaron tres zonas características de la isoterma, observando un punto de inflexión en un valor de actividad acuosa de 0,56, pero sin observar una diferencia significativa entre las muestras con concentraciones de MD diferentes. Se observó una disminución de los pigmentos al aumentar la a_w , observando diferencias notables entre las tres muestras, principalmente a valores de a_w menores a 0.56. Fue evidente la pérdida de pigmentos al aumentar la concentración de maltodextrina. Las óptimas condiciones de encapsulación se logran a la menor concentración de MD en condiciones medioambientales correspondientes a a_w 0,56.

Palabras Claves: Antocianinas; microcápsulas; liofilización; frutillas.

Abstract: The aim of this research was optimized conditions of storage and encapsulation anthocyanin pigments in microcapsules maltodextrin (MD) by lyophilization. The strawberries were conditioned, grinded, blanched and spin-dried. Three samples with different MD concentrations (30, 35 y 40 %) were prepared with the juice previously obtained. The samples were lyophilized and finally stabilized at different relative humidity mediums at 22 °C in order to obtain water adsorption isotherms. On the other hand, the presence of anthocyanins in each of the conditions was characterized. Three characteristic areas of isotherms were identified, showing an inflexion point in a 0,56 water activity value, but there were no differences within the three MD concentrations. Pigments concentration decreases when the a_w increases, showing differences within the three samples, principally in a_w under 0,56. This shows that the pigment decreases when the MD concentration increases. In conclusion, optimum results are obtained using the less MD concentration in a_w 0,56 environment or lower.

Keywords: Anthocyanins; microcapsules; lyophilization; strawberries.

Cecilia E. Csernoch⁽¹⁾, Alicia D. Gallo⁽¹⁾, María F. Mazzobre⁽²⁾

⁽¹⁾Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Av. Constitución, Luján, Argentina.

⁽²⁾CONICET- Dpto. de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Intendente GÜiraldes 2160, Ciudad Universitaria, Argentina.

Mail: ceciliacs2@hotmail.com

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las frutillas no sólo son atractivas por su aspecto, aroma y sabor, sino también por sus propiedades nutritivas, principalmente por su alto poder antioxidante. Las antocianinas son el pigmento predominante de ésta fruta, asociados a esta coloración natural son una excelente alternativa para diseñar alimentos compuestos que los contengan.

El objetivo de éste trabajo es analizar la estabilidad de las antocianinas encapsuladas con maltodextrina por liofilización. Se estudiará su comportamiento utilizando tres concentraciones distintas de maltodextrina a temperatura constante, evaluadas a distintas actividades de agua (*aw*). Con los datos obtenidos se espera estimar a partir de qué actividad de agua, o humedad del ambiente, la muestra comienza a absorber mayor cantidad de agua, haciéndose más móvil y dando lugar a que ocurran reacciones químicas y biológicas. De éste modo, podemos predecir la estabilidad física y química de la muestra, controlar las condiciones de almacenamiento y evaluar su deterioro.

Antocianinas – Generalidades

El término “antocianina” se deriva del griego *Anthos*, flor y *Cyanos*, azul; y se usa para designar los pigmentos de los tonos rojos, azules y violetas de flores, frutos, tallos, hojas y raíces (Francis, 1989). Las antocianinas son reconocidas como fitonutrientes poderosos, y su presencia en alimentos se distingue por su color característico, especialmente rojos oscuros, azules o púrpuras. Los fitoquímicos de esta clase suelen denominarse bioflavonoides, debido a su rol en el mantenimiento de la salud humana. Es así que han irrumpido en el mercado los productos llamados “nutracéuticos”, que incluyen ingredientes que no sólo proporcionan nutrientes, sino generan además un efecto benéfico en la salud humana (Sanz y Dalmau, 2008).

Encapsulación – Generalidades

La encapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, aromas, colorantes, drogas, vitaminas, aceites esenciales, etc.) son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de controlar su liberación, para protegerlos frente a procesos como oxidación, evaporación, degradación térmica o migración en el alimento (Palzer, 2009; Deladino y col., 2008; Sagalowicz y col., 2006; Schrooyen y col., 2001).

Distintos polímeros naturales han sido estudiados con el fin de desarrollar nuevos sistemas de encapsulación tales como maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, goma arábica y almidones modificados. Dichos ingredientes deben tener la capacidad de proporcionar una emulsión estable durante el proceso de secado y tener muy buenas propiedades de formación de película para proveer una capa que proteja al ingrediente activo de la oxidación.

La maltodextrina es un polímero de dextrosa obtenido a partir del almidón natural del maíz. Los productos de la hidrólisis parcial del almidón dan polímeros de D-glucosa y se clasifican generalmente según su grado de hidrólisis, expresado como equivalentes de dextrosa (DE). Las maltodextrinas tienen un sabor neutro, color blanco, carecen de olor, son fácilmente digeridos y son bien tolerados por el ser humano (Wrolstad, 2012).

Liofilización

El proceso de liofilización se basa en el desecado de determinados materiales por medio de la sublimación del agua contenida en éstos. Se realiza congelando el producto y se remueve el hielo aplicando calor en condiciones de vacío, de esta forma el hielo sublima

evitando el paso por la fase líquida. Dicha técnica constituye un efectivo sistema de preservación de elementos biológicos como células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, algas, frutas, vegetales y alimentos en general. Todos estos materiales contienen sustancias volátiles o termosensibles que no se ven afectadas por este proceso, ya que se trabaja a temperaturas y presiones reducidas. Lo más importante del método es que no altera la estructura fisicoquímica del producto y admite su conservación sin cadena de frío, ya que su bajo porcentaje de humedad permite obtener un producto con elevada estabilidad microbiológica. Asimismo, el hecho de no requerir refrigeración facilita su distribución y almacenamiento.

Por medio de la liofilización se puede extraer más del 95% del agua contenida en un alimento, lo que se traduce en un gran beneficio con relación al costo del transporte, ya que permite cargar mayor cantidad de mercadería sin necesidad de cadena de frío (se logra un producto más estable microbiológicamente). Al finalizar el proceso de liofilización, el alimento se convierte en una estructura rígida que conserva la forma y el volumen pero con peso reducido, preservando sus características nutritivas y organolépticas. Al rehidratarlo se recuperaran la textura, el aroma y el sabor original.

Isoterma de Sorción

Las isotermas de sorción son la representación gráfica del contenido de humedad presente en el alimento contra la actividad de agua en condiciones isotérmicas, donde el material está en equilibrio higroscópico con el ambiente en que se encuentra y no existe cambio en el peso de la muestra (Zug 2002). Para lograr esto, se utilizan diversas sustancias químicas que poseen la característica de retirar

o ceder humedad del ambiente en que se encuentren, hasta que se alcanza un estado de equilibrio. La humedad relativa se puede mantener constante al interior de recipientes herméticamente cerrados, utilizando soluciones saturadas de diferentes sales (Jowitt y Wagstaffe 1989; Erasmo 1989).

METODOLOGÍA

Obtención de las Muestras M1, M2 y M3

Las frutillas fueron adquiridas en comercios locales, luego se lavaron, deshojaron, escaldaron, trituraron y centrifugaron. El escaldado se realizó en microondas a potencia media hasta que la muestra alcanzó los 70 °C, la temperatura fue medida colocando el termómetro en el centro de la muestra, previa agitación. Luego se centrifugó (SORVALL RC6+ Thermo Scientific, Alemania) a una velocidad de 12000 rpm, durante 20 minutos, a 10 °C, obteniendo un jugo y pulpa con bajo contenido acuoso. Posteriormente, el jugo se filtró por vacío eliminando las semillas y demás restos. El jugo fue mezclado con tres concentraciones distintas de maltodextrina (MD), se partió de 150 ± 1 g de jugo y se llevó a las siguientes concentraciones finales de MD: Muestra 1: 30% MD, Muestra 2: 35% MD y Muestra 3: 40% MD, con agitación constante.

Se determinaron sólidos totales, expresados como °Bx, por refractometría, utilizando un refractómetro (HI96801 HANNA instruments, Romania). Las muestras fueron congeladas en freezer a -18 °C durante 48 h antes de ser liofilizadas.

Proceso de Liofilización

Las muestras congeladas fueron liofilizadas en un liofilizador (LABCONCO FREEZONE 12) estabilizado

en los siguientes parámetros: Presión: 17×10^{-3} MBAR, Temperatura: -54°C , durante 72hs. Luego se colocaron rápidamente en un desecador para evitar su rehidratación.

Isoterma de Sorción

Se pesó por triplicado aproximadamente 0,7 g de cada una de las muestras en balanza analítica (Denver Instrument, USA; con precisión $+ 0,0001\text{g}$), luego fueron colocadas en desecadores cerrados al vacío con humedades relativas constantes. Los desecadores quedaron a temperatura ambiente $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, controlada diariamente. Se utilizaron las siguientes soluciones saturadas de sales: CaCl_2 , $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$, CaCl_2 , NaBr , NaCl , KCl , que proporcionan actividades de agua: 0,11; 0,22; 0,35; 0,56; 0,75 y 0,836, respectivamente. En cada desecador se ubicó un recipiente con la solución saturada correspondiente y las muestras, se dejaron estabilizar durante 15 días, y se pesaron sucesivamente hasta peso constante. El contenido de humedad inicial fue determinado por diferencia en el peso antes y después del secado de los sistemas en estufas de vacío durante 48 h.



Figura 1: Desecador para control de humedades de equilibrio con soluciones saturadas.

Para el cálculo del contenido de agua se utilizó la siguiente ecuación:

$$\%H_2O = 100 \times \frac{P_i - P_f}{P_f - P_r} \quad (1)$$

donde, P_i es el peso de la muestra antes del tratamiento; P_f es el peso de la muestra después del tratamiento; P_r es el peso del recipiente correspondiente vacío.

De esta forma los resultados se expresaron en porcentaje de agua en base seca (% agua en b.s.) (Mazzobry y col 2001).

Cuantificación de Antocianinas en las Muestras Liofilizadas

Se determinó la concentración de antocianinas presentes en cada una de las muestras, para cada uno de los puntos de la isoterma. Se pesó 0,25 g de muestra liofilizada y se la llevó a 5 ml finales del buffer correspondiente según el método de pH diferencial. Se midió la absorbancia de la muestra diluida con soluciones buffer de cloruro de potasio a pH 1 y de acetato de sodio a pH 4,5, expresada como Cianidina-3-glucósido, utilizando la siguiente fórmula:

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad (2)$$

$$\text{Antocianinas (mg/l)} = (A \times \text{PM} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l), \quad (3)$$

donde A: absorbancia calculada previamente, DF: factor de dilución, PM: peso molecular, ϵ : coeficiente de extinción y l: paso (1 cm). Para expresarlo en cianidina-3-glucósido se consideró: PM: 449,2 y ϵ : 26900.

Todas las mediciones fueron realizadas por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de Humedad de Equilibrio

Las humedades iniciales de las muestras fueron de 2,152; 2,312 y $2,069 \pm 0,001$ g agua/g m.s. para las

muestras M1, M2 y M3 respectivamente.

Estas se graficaron vs a_w , para las tres muestras analizadas, y se obtuvieron isothermas de tipo II, de forma sigmoidea o tipo S, de las cinco establecidas por Van der Waals, frecuentes en alimentos como frutas y verduras (Martinez y col 1998; Debnath y col 2002).

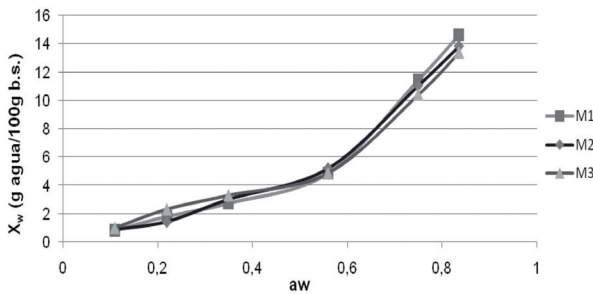


Figura 2: Contenido de humedad de equilibrio experimental para las muestras M1, M2 y M3 almacenadas a 22 °C.

No se observa diferencia significativa entre las tres muestras en cuanto a humedad de equilibrio. Sin embargo, se puede apreciar que a elevadas a_w , M3 presenta un menor contenido de humedad respecto a M1 y M2, esto indica que la adición de MD disminuye la higroscopicidad del material y por lo tanto, generaría un efecto protector positivo en el caso de almacenamiento prolongado. Tal efecto fue investigado por Tonon y col (2010) y por Gallo y col (2006).

Las muestras van cambiando su textura y color a medida que aumenta su contenido de agua, tal como se muestra en las figuras 3 y 4, inicialmente se presenta como un polvo color rosa claro sin contracción ni aglomeración de sus partículas, manteniendo éstas características en las a_w : 0,11, 0,22 y 0,35. Luego, a a_w : 0,56 comienza a observarse apelmazado y cambio de color de la muestra. A a_w : 0,75 y 0,84 los cambios son más notorios, se observa contracción, la muestra pasa a estado gomoso y con tonalidades anaranjadas.

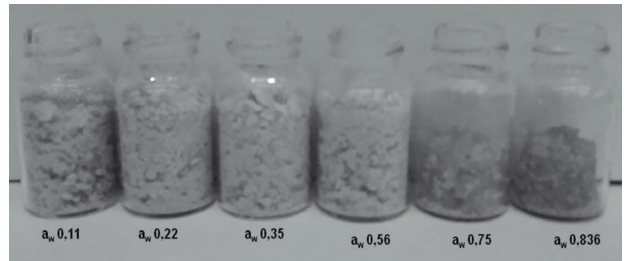


Figura 3: Cambios en textura y color, observación de contracción y aglomeración en las muestras estabilizadas a distintas actividades de agua.

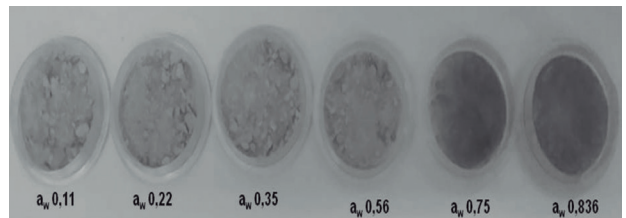


Figura 4: Cambios en textura y color en las muestras estabilizadas a distintas actividades de agua.

Contenido de Antocianinas

Se puede observar en la figura 2 como disminuye la concentración del pigmento al aumentar la actividad de agua del sistema. A mayor humedad ambiente, la muestra absorbe mayor cantidad de agua, aumentando la movilidad y dando lugar a que ocurran reacciones químicas y biológicas que facilitan la degradación del pigmento. Estos resultados concuerdan con los observados por Garzón y Wrolstad (2001) en moras de castilla y por Tonon y col (2010).

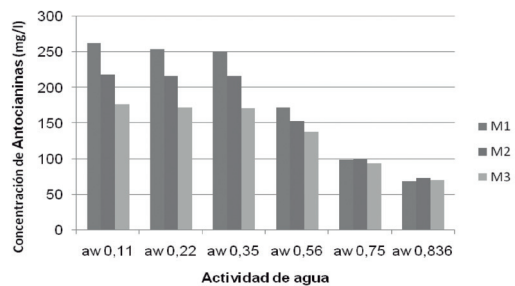


Figura 5: Contenido de antocianinas para cada muestra a las distintas actividades de agua analizadas.

Además, podemos apreciar una variación significativa en el contenido de antocianinas entre las tres muestras para las a_w : 0,11; 0,22 y 0,35, indicando que a mayor concentración de maltodextrina en la muestra disminuye la concentración del pigmento. Tal efecto puede deberse al mayor contenido de maltodextrina en la muestra y a la porosidad y estructura de la matriz.

Al igual que en la isoterma de adsorción, se observa un punto de inflexión en a_w 0,56, a partir del cual se manifiesta una degradación del pigmento debido al aumento de humedad ambiente, disminuyendo notablemente su concentración en la muestra. Se puede observar en la figura 5 como actúa la maltodextrina protegiendo el pigmento en situaciones extremas de humedad ambiente (a_w 0,75 y 0,836), probablemente debido a que, a mayor concentración de MD disminuye la higroscopicidad del material, como se mencionó anteriormente.

CONCLUSIONES

Las isotermas de adsorción obtenidas para las tres muestras indican que no hay una diferencia significativa, en cuanto a la absorción de agua en relación a la concentración de maltodextrina a lo largo de la curva.

Se pudo observar un punto de inflexión en a_w 0,56, indicando a que a valores superiores la muestra aumenta considerablemente su contenido de agua, dando lugar a que ocurran reacciones químicas y biológicas indeseables que pueden provocar el deterioro de la muestra.

En cuanto a los resultados de concentración de antocianinas, se observa una diferencia notable para cada una de las muestras con distintas concentraciones de maltodextrina. A valores bajos de a_w (entre 0,11 y 0,35), al aumentar la concentración de maltodextrina en la muestra disminuye la concentración del pigmento. Se observa el mismo punto de inflexión, en a_w 0,56, donde el pigmento comienza a disminuir rápidamente, lo cual podría deberse al aumento de agua en la muestra, que diluye al pigmento y da lugar a que ocurran reacciones químicas y biológicas que degraden las antocianinas. Por lo tanto, se logran óptimos resultados utilizando la menor concentración de MD (30 %) en un ambiente con a_w menor a 0,56.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad Nacional de Luján.

REFERENCIAS

- Debnath, S; Hemavathy, J; Bhat, K. K. (2002). *Moisture sorption studies on onion powder*. *Food Chemistry*, v. 78, n. 4, p. 479-482.
- Deladino, L.; Anbinder, P.S.; Navarro, A.S.; Martino, M.N. (2008). *Carbohydrate Polymers*, 71, 126-134.
- Erasmó, H. (1989). "Modelación matemática de las isotermas de sorción en piña". *Tesis de maestría en ciencia de los alimentos*. Instituto tecnológico de Veracruz, México, 13, 45.
- Francis, F.J. (1989). *Food colorants: anthocyanins*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 28, 273-314.
- Gallo, A. (2006) "Estudio de la estabilidad de pigmentos antocianos de frutillas en alimentos deshidratados" en *Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (2006)*, Córdoba, Argentina.
- Garzón, G. y Wrolstad, R. (2001). *The Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins at Varying Water Activity*. *Food Chem.* 75: 185-96.
- Jowitt, R. y Wagstaffe, P. J. (1989). *The certification of the water content of microcrystalline cellulose (MCC) at water activities*. Commission of the European Communities. Community Bureau of Reference. Bruselas.
- Martínez, N.; Andrés, A.; Chiralt, A.; Fito, P. (1998). *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno*. Servicio de Publicaciones, Universidad Politécnica de Valencia. Ref. 98.4034, 1998.
- Mazzobre, M. F.; Longinotti, M. P.; Buera, M. P. y Corti, H. R., 2001. *Effect of salts on the properties of aqueous sugar systems, in relation to biomaterial stabilization*. 1. *Water sorption behaviour and ice crystallization/melting*. *Cryobiology*, 43, 199-210.
- Palzer, S. (2009). *Trends in Food Science & Technology*, 20, 194-200.
- Parzanese, M. *Tecnologías para la Industria Alimentaria Liofilización de alimentos*. Alimentos Argentinos. Ficha N° 3.
- Sagalowicz, L.; Leser, M.; Watzke, H.; & Michel, M. (2006). *Trends in Food Science & Technology*, 17, 204-214.
- Sanz, Y. y Dalmau J. *Los probióticos en el marco de la nueva normativa europea que regula los alimentos funcionales*. *Acta Pediatr Esp.*, 66, pág. 27-31 (2008).
- Schrooyen, P.M.M.; van der Meer, R. y De Kruif, C.G. (2001). *Microencapsulation: its application in nutrition*. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60, 475-476.
- Tonon, R., C. Brabety M. Hubinger. (2010). *Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (Euterpe oleracea Mart.) juice produced with different carrier agents*. *Food Research International*, 43 (3): 907-914.
- Wrolstad, R. (2012). *Food Carbohydrate Chemistry*. John Wiley & Sons. New Jersey. United State. pp 23-28.
- Zug, J. P. (2002). *Fisicoquímica especial. Isoterma de adsorción de tres etapas y modelos de sorción restringida*. Monografía N° 6. Ed. Facultad de Ingeniería. Universidad de Buenos Aires, Argentina, 61.