

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA y ARQUITECTURA
Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



Una Institución Adventista

**Encapsulación del ácido ascórbico y compuestos fenólicos del
extracto de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* H.B.K.) en
alginato de sodio mediante gelificación iónica**

Por:

Janeth Salas Yañac

Asesor:

Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe

Lima, mayo de 2019

**DECLARACIÓN JURADA
DE AUTORIA DEL INFORME DE TESIS**

Asesor Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: **“ENCAPSULACIÓN DEL ÁCIDO ASCÓRBICO Y COMPUESTOS FENÓLICOS DEL EXTRACTO DE TUMBO SERRANO (PASSIFLORA MOLLISIMA H. B. K.) EN ALGINATO DE SODIO MEDIANTE GELIFICACIÓN IÓNICA”** constituye la memoria que presenta la **Bachiller Janeth Salas Yañac** para aspirar al título de Profesional de Ingeniero de Alimentos ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente constancia en *Lima*, 19 de junio del año 2019.



Asesor

Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe

Encapsulación del ácido ascórbico y compuestos fenólicos del extracto de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* H.B.K.) en alginato de sodio mediante gelificación iónica

TESIS

Presentada para optar el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos

JURADO CALIFICADOR



Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro
Presidente



Ing. Guido Fulgencio Anglas Hurtado
Secretario



Dr. Julio Florencio Paredes Guzmán
Vocal



Mg. Daniel Sumire Quenta
Vocal



Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe
Asesor

Lima, 24 de mayo de 2019

Dedicatoria

A mi madre por ser la mejor del mundo y por su apoyo incondicional y paciencia durante mi formación.

A mis hermanas (os) quienes estuvieron conmigo en todos momentos apoyándome y dándome fuerzas para cumplir esta meta.

Agradecimiento

A Dios por estar siempre junto a mí y darme sabiduría para realizar el presente trabajo de investigación.

A mi madre: Aurora Yañac Quichcca y hermanas (os), por todo su apoyo incondicional para culminar dicha investigación.

A la Universidad Peruana Unión y Productos Unión.

Al asesor de tesis, Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe, por haber brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento y por guiarme.

A los dictaminadores, Dr. Julio Florencio Paredes Guzmán y Dr. Reynaldo Justino Silva Paz.

A la Ing. Ketty Arellano Lino y a todos los docentes que me brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante cada día.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Encapsulación.....	3
2.1.1. Estructuras de las cápsulas.	5
2.1.2. Principales técnicas de encapsulación.....	6
2.1.2.1. Gelificación iónica.....	7
2.1.3. Materiales de pared para encapsulación.....	8
2.1.4. Aplicación de encapsulación de compuestos con actividad funcional	11
2.2. Tumbo Serrano (<i>Passiflora mollisima</i>).....	13
2.2.1. Composición nutricional del tumbo	14
2.2.2. Propiedades funcionales del tumbo	15
2.2.2.1. Ácido ascórbico	16
2.2.2.2. Fenoles totales	17
2.3. Diseños factoriales fraccionados	19
CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
3.1. Lugar de ejecución	22
3.2. Materiales e insumos.....	22
3.2.1. Materia prima.....	22
3.2.2. Materiales	23
3.2.3. Equipos.....	23
3.2.4. Reactivos	24
3.2.5. Agentes para la gelificación	24
3.3. Métodos de análisis físico, fisicoquímico y compuestos bioactivos del tumbo ..	24

3.3.1. Análisis de propiedades físicas	24
3.3.2. Propiedades fisicoquímicas	25
3.3.3. Cuantificación de ácido ascórbico	25
3.3.4. Cuantificación de fenoles totales.....	26
3.4. Proceso de extracción del extracto del tumbo serrano	27
3.5. Proceso de encapsulación por gelificación iónica.....	30
3.5.1. Preparación de la solución de alginato.....	31
3.5.2. Preparación de la solución reticulante.....	31
3.5.3. Formación de cápsulas por gelificación	31
3.6. Métodos de análisis de las cápsulas	32
3.6.1. Determinación de eficiencia de encapsulación de compuestos bioactivos .	32
3.6.1.1. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico	32
3.6.1.2. Eficiencia de encapsulación de fenoles totales.....	33
3.6.2. Determinación de propiedades fisicoquímicas	34
3.6.2.1. Higroscopicidad.....	34
3.6.2.2. Humedad.....	34
3.6.2.3. Determinación de Aw	34
3.6.2.4. Análisis de la solubilidad de las cápsulas.	34
3.6.3. Evaluación de las propiedades de flujo de las cápsulas.....	34
3.6.3.1. Densidad aparente	34
3.6.3.2. Densidad compacta.....	35
3.6.4. Análisis colorimétrico	35
3.6.5. Caracterización estructural y morfológica de las cápsulas	35

3.6.5.1. Morfología	35
3.6.5.2. Tamaño	35
3.7. Diseño y análisis estadístico.....	36
3.7.1. Diseño estadístico.....	36
3.7.2. Análisis estadístico	37
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
4.1. Caracterización de la materia prima	38
4.1.1. Análisis físico	38
4.1.2. Análisis fisicoquímico del extracto del tumbo	39
4.1.3. Compuestos bioactivos del extracto del tumbo.....	40
4.2. Obtención de cápsulas por gelificación iónica	43
4.3. Eficiencia de encapsulación de los compuestos bioactivos	44
4.3.1. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico.....	44
4.3.2. Eficiencia de encapsulación de fenoles totales.	49
4.4. Determinación de propiedades fisicoquímicas de las cápsulas.	55
4.4.1. Humedad	55
4.4.2. Actividad de agua (Aw)	59
4.4.3. Higroscopicidad de las cápsulas	62
4.4.4. Capacidad de solubilidad de las cápsulas.....	64
4.5. Propiedades de flujo de las cápsulas	68
4.5.1. Densidad aparente.....	69
4.5.2. Densidad compacta	72
4.6. Análisis de los parámetros de color en las cápsulas.....	75

4.6.1. Parámetro L* (Luminosidad)	76
4.6.2. Parámetro a*	79
4.6.3. Parámetro b*	82
4.7. Caracterización estructural y morfológica de las cápsulas.....	84
4.7.1. Tamaño de las cápsulas	84
4.7.2. Morfología de las cápsulas	90
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	94
5.1. Conclusiones.....	94
5.2. Recomendaciones.....	95
REFERENCIAS	97
ANEXOS.....	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de estructuras de las cápsulas	5
Tabla 2. Métodos de encapsulación y tamaño de capsula promedio	6
Tabla 3. Materiales usados en la encapsulación de alimentos.....	9
Tabla 4. Ejemplos de encapsulación de compuestos antioxidantes	12
Tabla 5. Zonas del Perú donde el tumbo serrano existe	13
Tabla 6. Las propiedades físicas del tumbo serrano en su estado de madurez intermedio “pitón”.....	14
Tabla 7. Composición nutricional de tumbo serrano.....	15
Tabla 8. Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del tumbo -	16
Tabla 9. Clasificación de los fenoles y ejemplos de ellos	18
Tabla 10. Factores y niveles del diseño factorial fraccionado	36
Tabla 11. Diseño factorial fraccionado para cuantificar fenoles totales y ácido ascórbico	37
Tabla 12. Estados de madurez del tumbo serrano y sus características físicas.	38
Tabla 13. Características físicas del tumbo en estado de madurez intermedio (Pintón)	39
Tabla 14. Análisis fisicoquímico del tumbo.....	40
Tabla 15. Compuestos bioactivos en el extracto del tumbo.....	41
Tabla 16. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico.	45
Tabla 17. Resultados de ANOVA y efecto en la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico	46
Tabla 18. Resultados de la Eficiencia de encapsulación (EE %) de fenoles totales. --	50
Tabla 19. Resultados de ANOVA y efecto para EE % de fenoles totales en las cápsulas.	50
Tabla 20. Resultados de las propiedades fisicoquímicas de las cápsulas.	55
Tabla 21. Resultados de ANOVA y efecto para la humedad de las cápsulas.	56
Tabla 22. Resultados de ANOVA y efecto para actividad de agua en las cápsulas. --	59

Tabla 23. Resultados de ANOVA y efecto para la higroscopicidad de las cápsulas. --	62
Tabla 24. Resultados de la solubilidad de las cápsulas -----	64
Tabla 25. Resultados de ANOVA y efecto de la solubilidad de las cápsulas. -----	65
Tabla 26. Resultados de las propiedades de flujo de las cápsulas.-----	68
Tabla 27. Resultados de ANOVA y efecto para la densidad aparente de las cápsulas. -----	69
Tabla 28. Resultados de ANOVA y efecto para la densidad compacta. -----	72
Tabla 29. Valores de los parámetros de color de las cápsulas.-----	75
Tabla 30. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro L* -----	76
Tabla 31. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro a* -----	79
Tabla 32. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro b* -----	82
Tabla 33. Resultados del diámetro de las cápsulas.-----	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la cápsula (Ortiz, 2016)-----	4
Figura 2. Proceso de gelificación del alginato de sodio y estructura en " caja de huevos" del calcio (KurozAwa y Dupas, 2017) -----	7
Figura 3. Estructura química del alginato de sodio (Moura et al., 2017) -----	10
Figura 4. Productos encapsulados o esferificados con alginato de sodio (Elayo, 2018) -----	12
Figura 5. Estructura histológica del tumbo serrano (León y Riveros, 2014) -----	14
Figura 6. Estructura del ácido ascórbico (Molina, 2012) -----	17
Figura 7. Estructura química de los flavonoides y sus principales subclases (Quiñones et al, 2012)-----	19
Figura 8. Las tres fracciones un tercio del diseño 3^3 con la relación de definición $I = AB^2C^2$ (Montgomery, 2004). -----	20
Figura 9. Fruto del tumbo serrano -----	22
Figura 10. Muestras de tumbo elegidas al azar para analizar sus características físicas -----	25
Figura 11. Flujograma para la extracción del extracto del tumbo -----	28
Figura 12. Flujograma de proceso de encapsulación -----	30
Figura 13. Sistema de encapsulación por gelificación iónica -----	32
Figura 14. La capacidad de reducción del ácido ascórbico del extracto de tumbo frente al reactivo 2,6 dicloroindofenol-----	42
Figura 15. Oxidación del reactivo de Folin-Ciocalteu -----	43
Figura 16. Morfología de cápsulas desarrolladas por el método de gelificación iónica por goteo -----	44
Figura 17. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la EE del ácido ascórbico (%) en función a $CaCl^2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl^2$ (%) (e) y (f).-----	47
Figura 18. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la EE de fenoles totales (%) en función a $CaCl^2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl^2$ (%) (e) y (f).-----	52
Figura 19. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la humedad (%) en función a $CaCl^2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl^2$ (%) (e) y (f).-----	57
Figura 20. Superficie de respuesta y curvas de contorno para A_w en función a $CaCl^2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl^2$ (%) (e) y (f). -----	61

Figura 21. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la higroscopicidad (%) en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).-----	63
Figura 22. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la solubilidad (%) en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).-----	67
Figura 23. Superficie de respuesta y curvas de contorno para densidad aparente(g/cm^3) en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).-----	71
Figura 24. Superficie de respuesta y curvas de contorno para densidad compacta (g/cm^3) en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).-----	74
Figura 25. Superficie de respuesta y curvas de contorno para L^* en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f). -----	78
Figura 26. Superficie de respuesta y curvas de contorno para a^* en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f). -----	81
Figura 27. Superficie de respuesta y curvas de contorno para b^* en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f). -----	83
Figura 28. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 4 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (a, b y c).	86
Figura 29. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 5.5 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (d, e y f).	88
Figura 30. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 7 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (g, h e i).	89
Figura 31. Morfologías obtenidas por estereoscopio óptico de las cápsulas del extracto de tumbo serrano, diferentes tratamientos. -----	92

SÍMBOLOS

a*: Coordenada rojo-verde

AA: Ácido ascórbico

AlgNa o AS: Alginato de sodio

ANOVA: Análisis de varianza

Aw: Actividad de agua

b*: Coordenada amarillo-azul

CaCl₂: Cloruro de calcio

DA: Densidad aparente (g/cm³)

DC: Densidad compacta (g/cm³)

EAG: Equivalente de ácido gálico

EE: Eficiencia de encapsulación

FT: Fenoles totales

L*: Luminosidad

M: Molar

Mm: Milímetro

N: Normalidad

Na₂CO₃: Carbonato de sodio

NaCl: Cloruro de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

Nm: Nano mol

FD: Factor de dilución

Rpm: Revoluciones por minuto

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico y fenoles totales del extracto del tumbo serrano en alginato de sodio mediante gelificación iónica. Se empleó el diseño factorial fraccionado $3^{(3-1)}$ con 9 tratamientos con dos réplicas, siendo los factores de trabajo: pH a 4, 5.5 y 7, CaCl_2 a 2.5, 3.5 y 4.5 % y AlgNa a 1.2, 1.5 y 1.8 %. Durante la investigación se analizó la materia prima en estado de madurez intermedia, obteniendo una longitud 11.23 ± 0.744 cm, diámetro 4.3 ± 0.240 cm, peso 102.88 ± 8.695 g, humedad 86.45 ± 0.646 %, pH 3.42 ± 0.006 , sólidos solubles 13.23 ± 0.057 °Brix, acidez titulable 2.59 ± 0.070 %, ácido ascórbico 70 ± 0.0014 mg/ 100 mL y fenoles totales 2145.81 ± 0.067 mg GAE/100 mL. Se obtuvo mayor eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico 95 ± 0.009 % en T3 (pH 4, CaCl_2 4.5 % y AlgNa 1.5%) y en la eficiencia de encapsulación de fenoles totales 90 ± 1.002 % en T6 (pH 5.5, CaCl_2 4.5 % y AlgNa 1.2 %). Las mejores características de las cápsulas fueron: humedad 9.86 ± 0.101 %, actividad de agua 0.36 ± 0.002 y mayor solubilidad en agua 37.27 ± 0.453 % en T7, menor higroscopicidad 23.23 ± 0.417 % en T3, en T1 mayor densidad aparente 0.738 ± 0.007 g/cm³ y densidad compacta 0.784 ± 0.008 g/cm³. Los mejores parámetros de color fueron: (L*) 32.02 ± 0.022 y (a*) 57.64 ± 0.349 en T1 y (b*) 73.57 ± 0.486 en T2. Referente al análisis estructural de las cápsulas, se obtuvieron menor diámetro 1.76 mm en T1 y una morfología cristalina, compacta y forma esférica en las cápsulas de T3. En conclusión, se logró obtener cápsulas del extracto de tumbo por el método de gelificación iónica y la técnica de goteo, siendo los factores de mayor efecto en todos los análisis de las cápsulas el pH, CaCl_2 y AlgNa.

Palabras clave: Tumbo serrano, gelificación iónica, ácido ascórbico, fenoles totales, cápsulas.

SUMMARY

The objective of the present research was to determine the efficiency of encapsulation of the ascorbic acid and total phenols of the extract of the banana passion fruit in sodium alginate by ionic gelation. The fractional factorial design $3^{(3-1)}$ with 9 treatments and two replicates were used, with the working factors: pH at 4, 5.5 and 7, CaCl_2 at 2.5, 3.5 and 4.5 % and AlgNa at 1.2, 1.5 and 1.8 %. During the investigation, the raw material was analyzed at intermediate maturity, obtaining a length of 11.23 ± 0.744 cm, diameter 4.3 ± 0.240 cm, weight 102.88 ± 8.695 gr, humidity 86.45 ± 0.646 %, pH 3.42 ± 0.006 , soluble solids 13.23 ± 0.057 ° Brix, titratable acidity 2.59 ± 0.070 %, ascorbic acid 70 ± 0.0014 mg / 100 mL and total phenols 2145.81 ± 0.067 mg GAE / 100 mL. Higher efficiency of encapsulation of ascorbic acid 95 ± 0.009 % in T3 (pH 4, CaCl_2 4.5 % and AlgNa 1.5 %) and in the efficiency of encapsulation of total phenols 90 ± 1.002 % in T6 (pH 5.5, CaCl_2 4.5 % and AlgNa 1.2 %). The best characteristics of the capsules were: humidity 9.86 ± 0.101 %, water activity 0.36 ± 0.002 and greater water solubility $37.27 \pm 0.453\%$ in T7, less hygroscopicity 23.23 ± 0.417 % in T3, in T1 greater apparent density 0.738 ± 0.007 g / cm³ and compact density 0.784 ± 0.008 g / cm³. The best decolor parameters were: (L^*) 32.02 ± 0.022 and (a^*) 57.64 ± 0.349 in T1 and (b^*) 73.57 ± 0.486 in T2. Regarding the structural analysis of the capsules, a smaller diameter of 1.76 mm was obtained in T1 and a compact, crystalline morphology and spherical shape in the T3 capsules. In conclusion, banana passion fruit extract capsules were obtained by the ionic gelation method and the drip technique, the pH, CaCl_2 and AlgNa being the most effective factors in all capsule analyzes.

Keywords: Banana passion fruit, ionic gelation, ascorbic acid, total phenols, capsules.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las industrias alimentarias y nutraceuticas requieren de tecnologías que puedan proteger los compuestos bioactivos por factores internos y externos. Una de las aplicaciones para mantener la estabilidad del ácido ascórbico y fenoles totales son mediante la encapsulación a través del método de gelificación iónica u otros (Martin, Morales, Gallardo y Ruiz, 2009).

El problema principal es la inestabilidad del ácido ascórbico y fenoles totales, y la deficiencia de consumo de aquellos en la dieta diaria, produce una incidencia de enfermedades oxidativas conocida como escorbuto, estrés oxidativo, envejecimiento, cardiovascular, trastornos oculares, cataratas, enfermedades cutáneas, procesos neurodegenerativos, inflamatorias, ciertos tipos de cáncer, etc. (Sánchez y Méndez, 2013). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014 y 2016) al año mueren cerca de 17.3 millones de peruanos por males cardiovasculares y cancerígenas, que equivale al 22 % y 20 % respectivamente.

La causa principal del deterioro de los componentes bioactivos en los alimentos, es la oxidación durante el almacenamiento y procesamiento tecnológico de diversos alimentos funcionales, al ser expuesto a ciertos factores externos como el oxígeno, humedad, luz y tratamientos térmicos a altas temperaturas provocan la pérdida de su estructura activa y formación de compuestos sin actividad biológica, además de elementos de precursores del oscurecimiento no enzimático (Urango, Montoya, Cuadros, Henao, Zapata, López et al., 2009).

Según principales mercados en 2016, la exportación del tumbo serrano en Perú fue de 586,79 Kg (España 96 % y Italia 3.05 %) en fruta y pulpa según reporta la Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo (PROMPERÚ, 2017). A pesar de las exportaciones el tumbo aún es relativamente desconocido en el mercado interno y mundial.

El proceso de encapsulación permite el empaquetamiento del extracto del tumbo a través de la aplicación de una cubierta delgada denominada pared; de esta forma se obtiene cápsulas, que consiste de una membrana semipermeable, resistente y delgada con el objetivo de proteger al compuesto bioactivo encapsulado de agentes como luz, calor y oxígeno; cumpliendo de esta manera la función de mantener el ácido ascórbico y fenoles totales estables y viables (Gutiérrez, Albillos, Casas-Sanz, Cruz, Estrada, Guerra et al., 2013).

El ácido ascórbico y fenoles totales actúan como antioxidante, siendo mecanismo de defensa en el organismo. En concentraciones normales poseen una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar y neutralizar radicales libres (RL) cediendo electrones, transformándolos en débiles, no tóxicos y bloqueando parte del daño causado en nuestro organismo. Así prevenir las enfermedades oxidativas como envejecimiento, cardiovasculares, neurodegenerativos, cáncer, entre otros (Encina y Carpio, 2011 y Molina, 2012).

La aplicación de la tecnología de encapsulación del ácido ascórbico, fenoles totales y otros nutrientes funcionales mediante gelificación iónica permite su estabilidad y serían utilizadas como aditivos naturales en la formulación y producción en industrias alimenticias (Industria láctica, panificación y en otras según requieran su uso), en productos nutraceúticos (como suplementos) y estéticos. Los objetivos de la investigación fue determinar la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico y fenoles totales del extracto del tumbo serrano en alginato de sodio mediante gelificación iónica.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Encapsulación

La encapsulación es definida como la tecnología de empaque en pequeños de materiales gaseosos, sólidos y líquidos contenidos en cápsulas que pueden liberar su contenido en forma controlada durante largos periodos y bajo las condiciones específicas. Es una técnica que protege el material encapsulado conservando dentro de una matriz polimérica o sistema de pared donde se crea un microambiente en la cápsula, que es capaz de controlar las interacciones entre la parte interna y externa de ésta, con el propósito de incrementar la estabilidad y la vida anaquel de éstos (Cuatzo, 2010).

La sustancia encapsulada, puede ser llamada activo, núcleo o relleno, fase de carga útil y la sustancia que está encapsulando es llamada recubrimiento, cáscara, cápsula, material de pared, membrana, matriz o fase externa. Este proceso atrapa una sustancia (agente activo) dentro de otra sustancia (material de pared) (Ortiz, 2016).

La mayor ventaja que tiene la encapsulación es que la fase interna o núcleo se libera bajo condiciones controladas en el momento y lugar deseado:

- Liberación térmica: sucede durante la cocción del alimento.
- Liberación física: Se da durante el quebramiento de la cápsula por esfuerzo físico (triturado, masticado).
- Disolución: La pared se disuelve bajo condiciones determinadas de concentración de sales o de pH, como ocurre durante la digestión (Brownlie, 2007).

El matriz de la cápsula consiste en una mezcla homogénea del material encapsulante e ingrediente activo (López, 2012). La liberación en estos sistemas depende del tipo del material de matriz, de la forma de la cápsula y la cantidad de compuesto activo (Figura 1). En la ciencia e ingeniería de los alimentos la encapsulación hoy en día se aplica para preservar y/o proteger numerosos ingredientes, que involucra la incorporación de agentes activos como ingredientes naturales, polifenoles,

antioxidantes, aditivos volátiles, enzimas, bacterias lácticas, colorantes, saborizantes, levaduras, vitaminas, minerales y entre otros, en pequeñas cápsulas (Riveros, 2015).

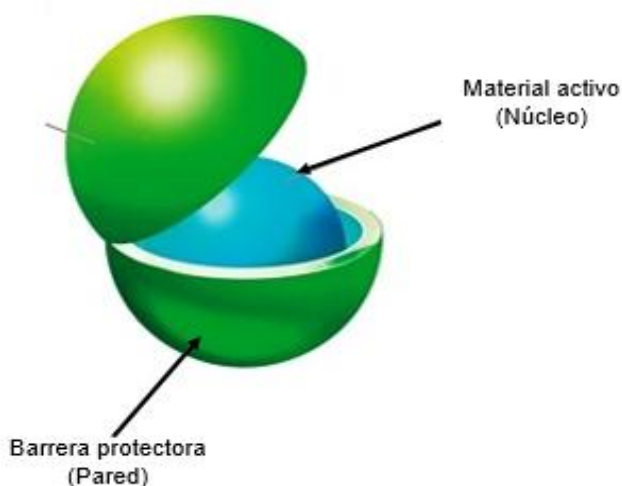


Figura 1. Estructura de la cápsula (Ortiz, 2016)

El uso de la técnica de encapsulación en la industria de alimentos tiene algunos propósitos, como (López, 2012):

- Proteger el compuesto activo de la degradación producida por los factores del ambiente (Calor, luz, aire, humedad, etc.)
- Liberación controlada del compuesto activo desde la matriz encapsulante bajo condiciones específicas (pH, temperatura, etc.)
- Hacer más fácil su manipulación y modificar las características físicas del material. Por ejemplo, modificar su densidad, convertir materiales líquidos en polvo, reducir la higroscopicidad, entre otros.
- Enmascarar sabores desagradables.
- Dividir los componentes con el fin de que éstos no reaccionen.

El principal objetivo de la encapsulación es proteger el material encapsulado de condiciones adversas, tales como luz, humedad y oxígeno, contribuyendo así al aumento de su estabilidad. Esto ocurre debido a la capacidad de las cápsulas de reducir la tasa de evaporación y de transferencia de material del núcleo al ambiente, además,

modifican las características físicas del material, facilitando su manejo y propiciando la liberación controlada del material encapsulado (Kuhn, 2013).

En la industria, la tecnología de encapsulación ha sido empleada por más de 60 años. Actualmente, la encapsulación es utilizada comúnmente en diferentes industrias como: alimenticia, textil, metalúrgica, química, cosméticos, farmacéutica y medicina (Riveros, 2015).

2.1.1. Estructuras de las cápsulas.

La forma y el tamaño de la mayoría de las cápsulas dependen mucho tanto del material, como también del método de obtención. Estos presentan mayor variedad de estructuras como se presenta en la Tabla 1, algunas presentan una geometría irregular, mientras que otras una geometría esférica. Las formas de las cápsulas dependen también de la composición de la pared, la técnica de encapsulación y de las propiedades fisicoquímicas del material encapsulado (Cuatzo, 2010).

Tabla 1. Tipos de estructuras de las cápsulas (Sandoval-Peraza, Cu-Cañetas, Peraza-Mercado y Acereto-Escoffié, 2016).

Tipos de estructura	Definición
Esfera simple	Material o núcleo rodeado de una capa con espesor uniforme. Cubierta inerte del núcleo.
Partículas irregulares	Con núcleo sin forma definida.
Estructura agregada	Con varios núcleos dentro del material de encapsulación. El compuesto encapsulado se encuentra disperso en el medio encapsulante.
Estructura combinada	Estas se obtienen por congelación del material ya encapsulado y cubierto de nuevo con otro material de cubierta (medicamentos deliberación prolongada).

Se consideran como microcápsulas a aquellas partículas que presentan un diámetro entre 1-1000 μm , nanopartículas a partículas con diámetros menores a 1 μm y aquellas que son mayores a 1000 μm se pueden definir como microgránulos o

macrocápsulas. La forma y el tamaño de las partículas dependen mucho del método de obtención, como se muestra en la Tabla 2 (Sandoval-Peraza et al., 2016).

Tabla 2. Métodos de encapsulación y tamaño de cápsula promedio (Cuatzo, 2010).

Método	Tamaño de la partícula
Coacervación (separación de fases) Polimerización interfacial.	1 - 1000 μm
Extrusión / evaporación disolvente.	1 - 1000 μm
Atomización y atomización- congelación.	0,1 - 1000 μm
Suspensión en aire	50 - 5000 μm
Gelificación iónica	> 1000 μm^*

*Procedimiento tradicional: Tamaño de partícula > 1000 μm . En condiciones controladas: tamaño < 1000 μm .

2.1.2. Principales técnicas de encapsulación

Riveros (2015) y Martin et al (2009) reportaron diversos métodos para producir cápsulas, se dividen en tres grandes grupos:

- **Procesos físicos:** Secado por aspersion, enfriamiento tras atomización (*Spray chilling*), recubrimiento en lecho fluido, disco giratorio con orificios múltiples.
- **Procesos químicos:** Polimerización interfacial e inclusión molecular.
- **Procesos fisicoquímicos:** Coacervación compleja, liposomas y gelificación iónica.

Estas técnicas han sido utilizadas para la protección de una gran variedad de ingredientes en la industria de alimentos. El uso del proceso de encapsulación adecuado depende de múltiples factores como: Tamaño de partícula requerida, propiedades fisicoquímicas del material encapsulante, el compuesto activo a encapsular, la finalidad del producto encapsulado o su aplicación, su mecanismo de liberación y costo (Sandoval-Peraza et al., 2016). En la actualidad el proceso de secado por atomización (Representa el 80 a 90 %) y la extrusión son más empleados en la industria alimentaria, esto debido al costo accesible y la producción en serie de encapsulados (Gharsallaoui, Roudaut, Chambin, Voilley y Saurel, 2013).

2.1.2.1. Gelificación iónica

La formación de la pared de las cápsulas tiene lugar por una reacción de gelificación iónica entre un ión de carga opuesta y un polisacárido. La metodología comprende en suspender el principio activo en una disolución acuosa de alginato de sodio. Dicha suspensión se hace gotear sobre una disolución acuosa de cloruro cálcico en agitación. Se forma así cubiertas de alginato cálcico que son insolubles y permeables (KurozAwa y Dupas, 2017).

La reacción de gelificación es la siguiente:



Es un método de encapsulación que se puede realizar mediante el uso de procedimientos: Atomización, goteo (coextrusión, extrusión) o pulverización electrostática, en la Figura 2 se muestra el proceso de gelificación del Alginato de sodio y la estructura en "caja de huevo". Este método tiene la ventaja de utilizar condiciones no agresivas, no emplea altas temperaturas, agitación vigorosa o disolventes orgánicos, lo que permite la encapsulación de sustancias que se degradarían en otras condiciones (Moura et al., 2017).

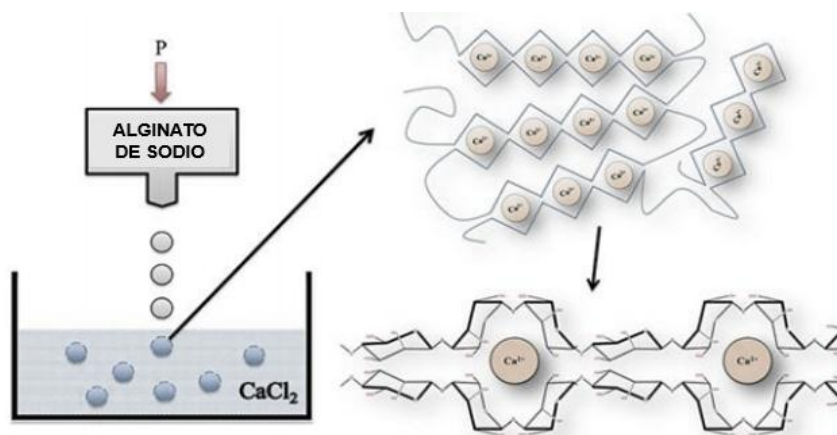


Figura 2. Proceso de gelificación del alginato de sodio y estructura en "caja de huevos" del calcio (KurozAwa y Dupas, 2017)

Entre los diversos métodos para encapsular compuestos bioactivos, la gelificación iónica es una técnica interesante, porque puede considerarse de bajo costo y no requiere equipo especializado, temperaturas altas y solventes orgánicos (KurozAwa y Dupas, 2017).

Esta técnica consiste en agregar un volumen de solución, por cada cuatro volúmenes de material encapsulante y mezclar a temperatura ambiente. A continuación, la solución se coloca en una jeringa u otro dejando gotear el concentrado en una solución de cloruro de calcio en agitación continua, las cápsulas se mantendrán durante 30 min en la solución a temperatura ambiente y luego se filtran. Las cápsulas se secan durante 24 horas a 28 °C (Hernández, Iliina, Ventura, Belmares, Contreras, Michelena et al., 2016).

- **Tiempo de contacto de las partículas con la solución de cloruro cálcico:**

El tiempo de reacción es necesario, pero no debe ser excesivo, debido a que facilita la difusión del principio activo por gradiente de concentración.

- **Concentración de iones calcio:**

Un parámetro crítico en la producción de partículas. Al incremento de la concentración, aumenta el rendimiento total de partículas y la encapsulación de principio activo (Martin et al., 2009).

2.1.3. Materiales de pared para encapsulación

El tipo de material encapsulante es considerado como uno de los principales factores que influyen en la estabilidad de los compuestos encapsulados, de acuerdo a la naturaleza del material encapsulante. Todos los materiales encapsulantes deben tener los siguientes requisitos: Las propiedades de formación de película, baja higroscopicidad, baja viscosidad en altas concentraciones de sólidos (menor que 0.5 Pas en concentraciones superiores a 45 %), de sabor y olor suaves, fácil reconstitución y bajo costo. Los tipos de materiales de encapsulación son gomas, carbohidratos, celulosas, lípidos, proteínas y materiales inorgánicas, como se muestra en la Tabla 3 (Food Ingredients Brasil, 2013).

Tabla 3. Materiales usados en la encapsulación de alimentos (Martin et al., 2009).

Tipo de cobertura	Cobertura específica
Gomas	Carragenina, Agar, goma arábica, alginato de sodio.
Carbohidratos	Dextranos, jarabes de maíz, Almidón, sacarosa.
Celulosas	Etilcelulos, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, carboximetil-celulosa.
Lípidos	Parafinas, ceras, monoglicéridos, diglicéridos, aceites, ácido esteárico, triestearina, grasas.
Proteínas	Gluten, caseína, albúmina
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos

a) Alginato de sodio

Los alginatos son polímeros, formados por la unión de monómeros (monosacáridos) de tipo orgánico. Son polisacáridos que se encuentran en las paredes celulares de las algas pardas y también pueden ser producidos por bacterias no patógenas y fijadoras de nitrógeno como *Azotobacter vinelandii*. Son derivados del ácido algínico y la síntesis de los alginatos se da a partir de la fructosa, pasando por el ácido manurónico y gulurónico (Nava, Michelena, Iliná y Martínez, 2015).

El alginato es un agente encapsulante de grado alimentario utilizado en la encapsulación de sustancias debido a su capacidad de formar esferas, micropartículas, geles y nanopartículas. Los beneficios que presenta en caso de ingestión es como fibra diaria para la reducción del colesterol en la sangre, tiene la capacidad para prolongar la vida útil en productos y de los niveles de azúcar (Hernández et al., 2016).

Según Moura, Berling, Germer, Alvim y Hubinger (2017) los cationes divalentes que actúan como agente de reticulación pueden interactuar con el alginato. Se ha demostrado que el alginato tiene biodegradabilidad, biocompatibilidad y es atóxico. En lo que respecta a su estructura como se observa en la Figura 3, el alginato es un biopolímero lineal polianiónico compuesto por ácidos L-gulurónico y D-manurónico.

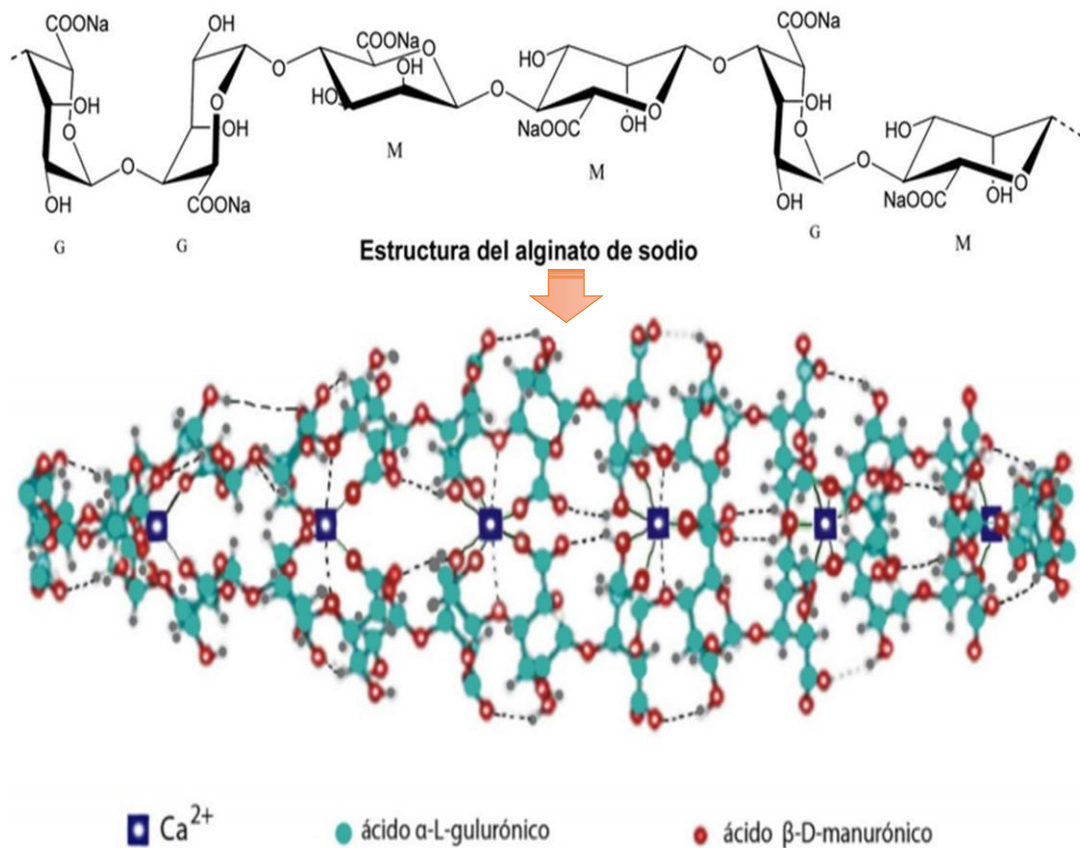


Figura 3. Estructura química del alginato de sodio (Moura et al., 2017)

El comportamiento del alginato se ve afectada en general por los siguientes factores (Cubero, Montferrer y Villala, 2002).

- Temperatura: En presencia de temperatura alta no hay gelificación porque las cadenas tienen exceso de energía y no se alinean para formar un gel.
- pH: A pH ácido aumentan la viscosidad y dependiendo de la cantidad de iones calcio disponible, puede gelificar a pH 5. La disminución del pH aumenta la eficacia del alginato ya que se precisa menos calcio libre en el medio para lograr su funcionalidad. A pH entre 3 y 3.2 el alginato es insoluble y precipita en forma de ácido algínico.
- Presencia de proteínas: A pH ácido y temperatura relativamente bajas los alginatos pueden desnaturalizar las proteínas.
- Azúcares: Niveles altos de azúcares solubles disminuyen la fuerza de gel.

b) Propiedades gelificantes de alginato de sodio

El gel es un sistema difásico constituido por una red macromolecular tridimensional sólido que retiene entre sus mallas una fase líquida. Su formación implica la asociación de cadenas entre sí o de segmentos de cadenas entre ellas. Las etapas de transición son diversas (Multon, 2000):

- Estado “sol”: Etapa donde el polímero forma una disolución, las macromoléculas no están organizadas unas respecto de otras.
- El estado “gel”: Aparece cuando las cadenas están suficientemente asociadas para formar una red gel elástico.
- A medida que las cadenas se organizan entre sí, el gel se transforma cada vez más rígido, lo que da lugar al fenómeno de la sinéresis, el gel se contrae y exuda una parte de la fase líquida.

2.1.4. Aplicación de encapsulación de compuestos con actividad funcional

Los alginatos son utilizados en procesos de encapsulación, que consiste en el proceso en donde pequeñas gotas son rodeadas por un recubrimiento heterogéneo u homogéneo integrado a las cápsulas con amplias aplicaciones (Figura 4), promoviendo un aumento en la vida útil del producto (López, 2012).

La Tabla 4, muestra un resumen de los diferentes tipos de antioxidantes naturales que han sido encapsulados, los materiales encapsulantes y las técnicas empleadas.

Tabla 4. Ejemplos de encapsulación de compuestos antioxidantes (López, 2012).

Compuesto activo	Material encapsulante	Técnica de encapsulación	Referencia
Aceite de oliva	Alginato	Inclusión molecular/ Extrusión	(Mourtzinou et al., 2007)
Catequina	Quitano	Gelificación iónica/ Inclusión molecular	Zhang et al., 2007)
Extracto de Piper sarmentosum	Alginato	Extrusión/ Gelificación iónica	(Chan et al., 2010; Yim, et al, 2010)
Extractos de plantas medicinales	Alginato	Extrusión electrostática	(Stojanovic, et al.,2012)
Extracto de propóleo	Proteína de soya	Coacervación compleja	(Nori et al., 2011)
Extracto de yerba Mate	Alginato, quitano/Sacarosa	Gelificación iónica/ Spray drying	(Ferrari et al.,2012)
Té	Liposomas	Emulsión	(Li, y col.,2000; Ren, et al., 2009)



Figura 4. Productos encapsulados o esferificados con alginato de sodio (Elayo, 2018)

2.2. Tumbo serrano (*Passiflora mollisima*)

El tumbo serrano (*Passiflora mollisima* B.H.K) es un fruto que pertenece a la familia Passifloraceae. La variedad cercana del tumbo serrano son la granadilla (*P. Ligularis*) y el maracuyá (*P. Edulis*), especies de mayor explotación comercial. Conocida como Curuba en Colombia, Parcha en Venezuela, Taxo en Ecuador (Encina y Carpio, 2011).

En el Perú las zonas de producción se ubican entre 1000 a 3500 m.s.n.m. de preferencia en la sierra de las regiones de Ancash, Junín, Moquegua y Huancavelica como se muestra en la Tabla 5; requiere clima con temporadas de alta humedad y secas, especialmente son originarios en los valles interandinos, con temperaturas entre 18 °C a 24 °C, cultivándose mayormente bajo lluvia en huertos familiares, enramadas o crecen en estado semi silvestre formando cercos vivos de protección en heladas (FAO, 2007).

Tabla 5. Zonas del Perú donde el tumbo serrano existe (León y Riveros, 2014)

Departamento	Provincia y distrito
Huánuco	Pampayacu y Huánuco
Junín	Carpapata, Tarma, Huancayo y Ocopa.
Pasco	Oxapampa
Ayacucho	Carrapa y Ayacucho.
Cuzco	Ollantaitambo, Huasao, Quispicanchis, Cuzco y Valle Urubamba.
Apurímac	Parccarccoto, Valle de Apurímac.
Huancavelica	Pampas Tayacaja.

El Fruto es una baya oblonga u ovoide, al madurar es amarillo, blanco o rojizo como se observa en la Figura 5, dimensiones variables de 6 a 20 cm de largo, de 3 a 7 cm de diámetro y su peso promedio es de 90 g como se presenta en la Tabla 6, en fruto madurez intermedio (Pintón). La pulpa del tumbo está constituida por semillas envueltas

en arilos con jugo aromático, color anaranjado o rojizo; generalmente rico en niacina (3.05 mg en 100 g), tiene alto contenido de pectinas, sabor muy agradable y agridulce, con pH que varía de 3.5 a 4.5 según la variedad (León y Riveros, 2014).

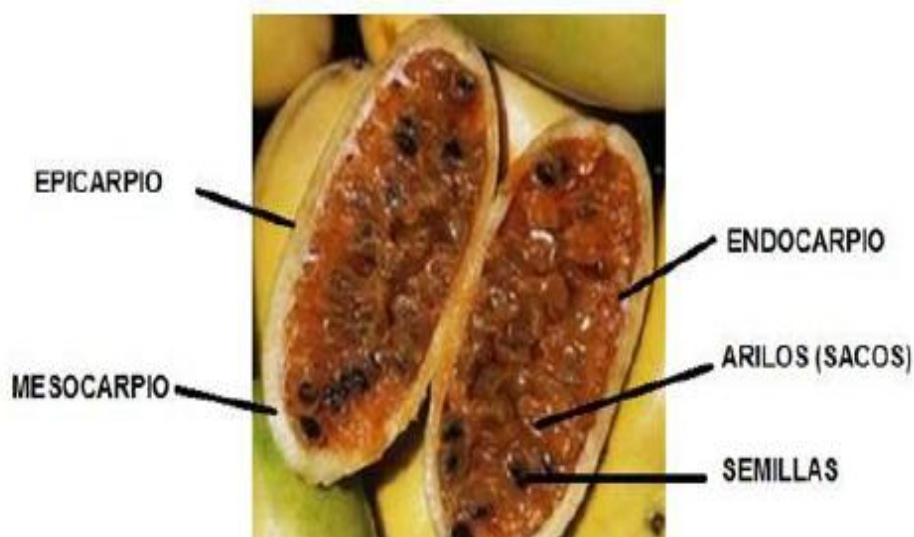


Figura 5. Estructura histológica del tumbo serrano (León y Riveros, 2014)

Tabla 6. Las propiedades físicas del tumbo serrano en su estado de madurez intermedio “pitón” (Encina y Carpio, 2011).

Características físicas		Valor
Tamaño	Diámetro (cm)	5
	Longitud (cm)	8
Peso	Parte comestible (g)	47
	Fruta entera (g)	75
	Cáscara más semilla (g)	28

2.2.1. Composición nutricional del tumbo

En la industria alimentaria el tumbo se usa para preparar licores, sorbetes, jugos a partir de la pulpa congelada, helados, mermeladas y para saborizar productos lácteos. Sus características de importancia son su sabor y aroma: Tenues, Suaves y delicados, que le otorga amplias posibilidades de fruta exótica en los mercados de Norteamérica y

Europa reportado por el Instituto Nacional de Salud (INS, 2009). La Tabla 7 menciona la composición nutricional de tumbo serrano.

Tabla 7. Composición nutricional de tumbo serrano (INS, 2009)

Composición	Unidades	<i>Passiflora mollisima</i>
Energía	Kcal	64
Proteínas	g	1.2
Grasa	g	0.5
Carbohidrato	g	15.4
Fibra	mg	3.6
Calcio	mg	8
Fósforo	mg	34
Hierro	mg	0.6
Retinol	mg	159
Riboflavina	mg	0.11
Niacina	mg	4.56
Ácido Ascórbico	mg	66.7

2.2.2. Propiedades funcionales del tumbo

El tumbo contiene como propiedades funcionales los compuestos bioactivos (Tabla 8), las que más abundan en este fruto son: Los carotenoides, compuestos fenólicos, ácido ascórbico, otras vitaminas que podrían proporcionar el efecto fisiológico beneficioso para la salud. Dado que existe un efecto sinérgico entre los compuestos y son las que le confieren una gran capacidad antioxidante, por ello desempeñan un papel esencial en la protección frente los fenómenos de daño oxidativo y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Zelada, Rene, Rivadeneira y Laura, 2011).

También se encarga de disminuir el riesgo de alteraciones cardíacas, prevenir varios tipos de cáncer, evitar la obesidad, funcionamiento eficaz del sistema inmunitario, reducir el riesgo de la apoplejía, disminuye el envejecimiento, retrasar el desarrollo de las cataratas y bajar la tensión arterial; son aquellos efectos beneficiosos del consumo de jugos y frutas. Los antioxidantes son considerados, sustancias que actúan como mecanismos de defensa en el organismo. En concentraciones normales poseen una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar y neutralizar radicales libres. Los antioxidantes ceden electrones a los RL, transformándolos en débiles y no tóxicos (Molina, 2012).

Tabla 8. Análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del tumbo (Encina y Carpio, 2011).

Componente		Contenido
Ácido ascórbico (mg/100g)		61.80 ± 3.58
Carotenos totales (mg de β-caroteno/100g)		1.83 ± 0.03
Compuestos fenólicos (mg clorogénico/100g).		190 ± 2.14
Capacidad antioxidante (µg eq trolox/g) DPPH	Hidrofílica	494.32 ± 12.42

2.2.2.1. Ácido ascórbico

El ácido ascórbico es un compuesto hidrosoluble que cumple importantes funciones como antioxidantes en el organismo. Tiene el potencial para proteger carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos (ADN Y ARN) y lípidos contra el daño oxidativo causados por diversos radicales libres y especies reactivas (Molina, 2012). Actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes tales como la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser consumida a través de los alimentos.

Según Instituto de investigaciones agropecuarias (INIA, 2015), reportó que la vitamina C es un componente que se necesita para el crecimiento y reparación de los tejidos en todas las partes del cuerpo. Es utilizado para formar una proteína importante

utilizada para proteger los tendones, la piel, los vasos sanguíneos, ligamento, formar tejido cicatricial y sanar heridas.

El contenido de ácido ascórbico, puede variar en función de la especie y variedad del fruto o verdura, generalmente son fuente de vitamina C. La organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO, 2006) informa que es necesario consumir 75 mg diarios para que el cuerpo permanezca saturado con vitamina C. La Figura 6 muestra la estructura del ácido ascórbico.

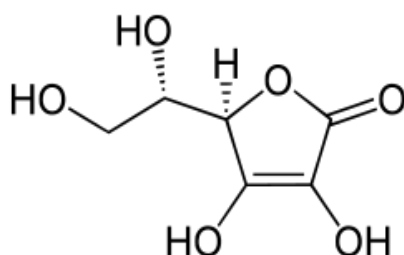


Figura 6. Estructura del ácido ascórbico (Molina, 2012)

La deficiencia del ácido ascórbico produce una enfermedad conocida como el escorbuto, con daños relacionados con la síntesis del colágeno, ya que el ácido ascórbico es un cofactor esencial en este proceso. Las consecuencias clínicas van desde la debilidad de las encías a las hemorragias diseminadas en todo el organismo (Ramos, 1991). La vitamina C es un nutriente esencial en la dieta humana y es bien conocido por su capacidad de reducir las reacciones de oxidación.

La estabilidad del ácido ascórbico es afectada por varias condiciones ambientales, como, la temperatura, la actividad de agua, luz y el oxígeno, porque es la más sensible a estos factores mencionados (Sandoval, 2010).

2.2.2.2. Fenoles totales

Los fenoles son sintetizados por las plantas (sus frutas, tallos hojas, semillas, raíces u otras partes). Producto de su metabolismo secundario. Todos exhiben propiedades antioxidantes y dan cuenta de la mayor parte de la actividad antioxidante que exhiben las verduras, frutas, bebidas naturales y ciertas infusiones consumidas por la población. Químicamente, todos los polifenoles presentan en su estructura, a lo

menos uno o más grupos hidroxilos (HO-) unidos en un anillo aromático, es decir, presentan algún grupo fenólico (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012).

Según Losada y Bravo (2017) todos los compuestos fenólicos poseen una estructura común característica: Un anillo aromático que lleva un sustituyente hidroxilo. A partir de la estructura básica, varios miles de compuestos han sido descritos, desde simple fenólicos a compuestos altamente polimerizados tales como taninos. Los polifenoles se clasifican en Tabla 9.

Tabla 9. Clasificación de los fenoles y ejemplos de ellos (Losada y Bravo, 2017).

Estructura química	Tipo	Ejemplo de fenoles
C6	Fenol simple	Eugenol
C6- C1	Ácido fenólico Ácido benzoico	Ácido gálico Ácido elágico
(C6- C1)n	Tanino hidrolizables	
C6- C2	Ácido fenil acético	
C6- C3	Ácido hidroxicinámico Cumarinas	Ácido cafeico Ácido ferúlico
(C6- C3)2	Lignanós	
C6- C1-C6	Benzofenona Xantanas	
C6- C2-C6	Etilbenos	Resveratrol
C6- C3-C6	Chalconas Flavonoides	Antocianinas Flavonoles Flavonas Flavononas Isoflavonas Flavonoles

Los compuestos fenólicos son considerados como uno de los antioxidantes que más abundan en la dieta humana. Sus ventajas son prevenir la aparición de enfermedades cardiovasculares, ejercen importante actividad antiinflamatoria, ayudan a prevenir el sobrepeso y la obesidad, previene la diabetes, beneficia a la hora de prevenir la aparición de cáncer y es útil en el tratamiento o prevención de enfermedades neurodegenerativas (INIA, 2015). La estructura química de los flavonoides y sus principales subclases se muestra en la Figura 7.

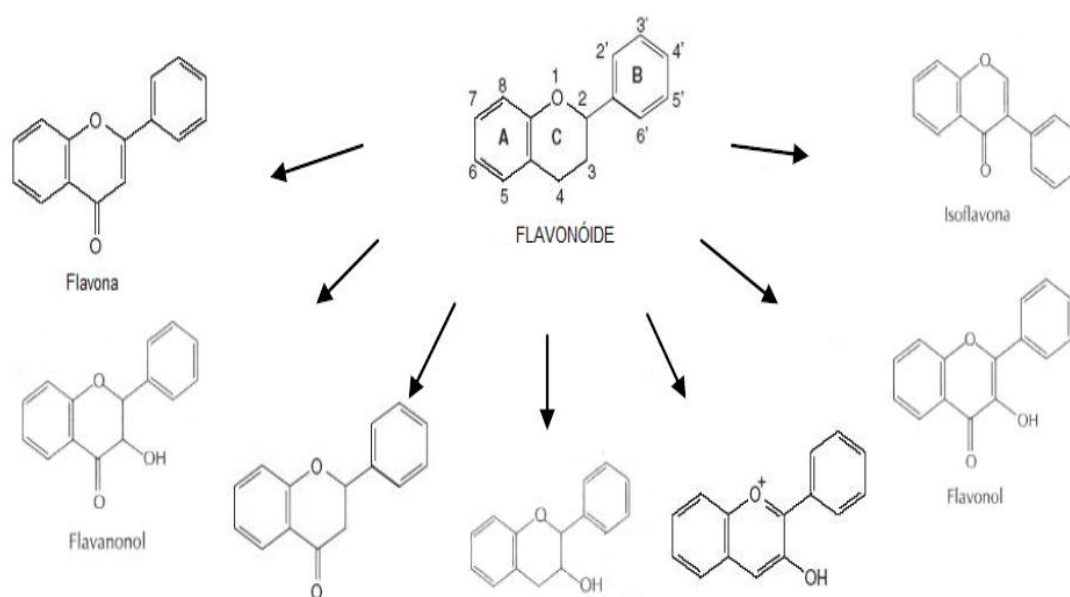


Figura 7. Estructura química de los flavonoides y sus principales subclases (Quiñones et al, 2012)

2.3. Diseños factoriales fraccionados 3^{K-1}

Un diseño fraccionado es un diseño en el cual solo se realizan un subconjunto seleccionado o "fracción" de las corridas experimentales incluidas en el diseño factorial completo. Son una opción adecuada cuando los recursos son limitados o el número de factores incluidos en el diseño es grande, porque utilizan menos corridas que los diseños factoriales completos. Permite estudiar los efectos de interés, que será suficiente con realizar una parte (fracción) del diseño completo y para fines de predicción se recomienda coeficientes de determinación ajustado del 70% cuando hay muchos factores en el estudio (Button, 2012).

El diseño factorial fraccionado puede ser realizado de dos formas en 2 niveles 2^k , (alto y bajo) o 3 niveles 3^k (bajo, medio y alto), se utilizan las notaciones 2^{k-p} o 3^{k-p} , donde 2 o 3 sigue siendo el número de niveles, k el número de factores independientes y la letra p indica el grado de fraccionamiento ($1/2$, $1/3$, $1/4$) (Myers, Montgomery y Anderson-Cook, 2009).

a) Diseños fraccionados de tres niveles

Esta fracción reduce el número de corridas en la tercera parte que las del diseño factorial completo. Para construir un diseño fraccionado 3^{k-1} se selecciona una componente de interacción, normalmente la de orden más alto, y se hace una partición del diseño 3^k completo en tres bloques con 3^{k-1} combinaciones posibles de tratamientos en cada bloque, donde cada efecto principal o componente de interacción estimado a partir del diseño 3^{k-1} tiene dos alias. Por ejemplo, si consideramos una fracción de un tercio del diseño 3^3 , puede seleccionarse cualquier componente de la interacción ABC para construir el diseño (ABC , AB^2C , ABC^2 o AB^2C^2). Supongamos que elegimos la componente AB^2C^2 . Cada fracción del diseño 3^{3-1} resultante contendrá $3^2 = 9$ combinaciones de tratamientos que deben satisfacer (Montgomery, 2004).

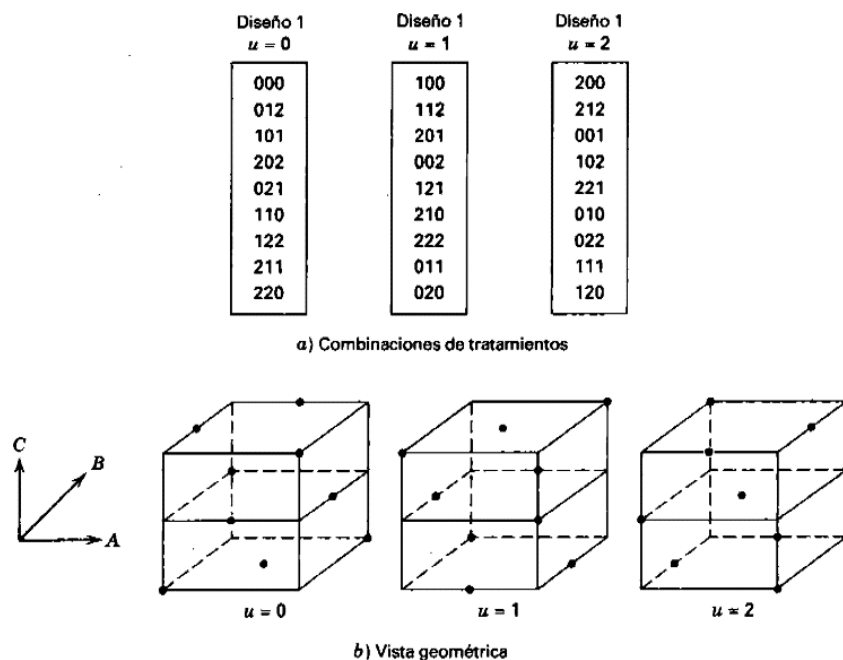


Figura 8. Las tres fracciones un tercio del diseño 3^3 con la relación de definición $I = AB^2C^2$ (Montgomery, 2004).

El diseño factorial 3^k o 3^{k-1} ; es decir, un arreglo factorial de k factores que tienen tres niveles cada uno y se hace referencia a los tres niveles de los factores como bajo, intermedio y alto; cuando los factores son cuantitativos, es común denotar los niveles -1, 0 y +1, respectivamente. La adición de un tercer nivel de los factores permite que la relación entre la respuesta y los factores del diseño se modele como un modelo cuadrático. Estos diseños pueden generar modelos de primer orden, segundo orden y hasta pueden optimizar procesos al trabajar con puntos centrales o réplicas. Las repeticiones al centro permiten detectar la presencia de curvatura (Button, 2012 y Montgomery, 2004).

b) Ventajas y desventajas de diseños factoriales fraccionados 3^k

Los diseños factoriales fraccionados permiten estudiar un elevado número de factores en un número de experimentos mucho menor de lo que requeriría una factorial completa (Rodrigues y Lemma, 2012).

En general, los diseños factoriales fraccionados implican una pérdida de información estadística, requiriendo realizar supuestos sobre la no significatividad de efectos de orden superior (por ejemplo, interacciones entre dos o más atributos). El uso de los diseños factoriales fraccionados lleva con frecuencia a una gran economía y eficiencia en la experimentación, en particular si las corridas pueden hacerse secuencialmente (Soler, 2016).

Al usar un diseño fraccionado no permite medir la posible falta de ajuste del modelo, a menos que se cuente con una estimación de la varianza del error haciendo réplicas del punto central o replicas (Gutiérrez, 2008).

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

La investigación se ejecutó en los Centros de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL), Ciencia de Alimentos (CICAL) y laboratorio de Procesos pertenecientes a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Medicina y en el laboratorio de Control de Calidad de Unión de la Universidad Peruana Unión, Lima – Perú.

3.2. Materiales e insumos

3.2.1. Materia prima

Se utilizó el tumbo serrano (*Passiflora Mollissima* H.B.K.) con estado de madurez Pintón (Figura 9); adquirida en el mercado central de frutas-Lima, provenientes de la provincia de Oxapampa/ Pasco (1814 m. s. n. m.).



Figura 9. Fruto del tumbo serrano

3.2.2. Materiales

- Desecador de vidrio (210 mm).
- Probeta (25 mL).
- Soporte de anillo (20.13 x 12.7 cm base)
- Vasos de precipitado (10, 50 y 100 mL).
- Placas Petri (80 mm x 15 mm).
- Embudo de vidrio (100 mm de diámetro y 100 mm de longitud del mango).
- Fiola (10, 25, 100, 250 y 1000 mL).
- Tubos de ensayo (5 mL).
- Micro pipetas (10 – 1000 µL).
- Pipetas volumétricas (1, 5 y 10 mL)
- Colador de acero inoxidable (20 cm)
- Papel filtro (Nathmen N° 42).
- Otros.

3.2.3. Equipos

- Centrifuga con refrigeración (Marca: Labotec, modelo: H-2050R).
- Homogenizador de alto cizallamiento (Marca: Silverson, modelo: LM5-A).
- Agitador magnético (Marca: H.W KESSEL, modelo: SP18420-26).
- Horno secador de bandejas (Modelo: HSB1).
- Espectrofotómetro digital (Marca: Venier, modelo: Go direct Spectrovis plus).
- Analizador de humedad (Marca: PECASON, modelo:MX-50).
- Medidor de actividad de agua (Marca: AQUALAB, modelo: 3TE).
- Estufa (Marca: Memmert, modelo: UN200).
- Balanza analítica (Marca: Pionner, modelo: OHAUS, 210 gr*0.1 mg).
- Colorímetro digital (Marca: 3NH, modelo: NR200).
- Pie de rey digital (Marca: Vernier).
- Estereoscopio óptico (Marca: OLYMPUS, modelo: SZ2-ILST).

- Balanza granero
- Agitador Vortex multiple (Modelo: VWR).
- Refractómetro (Marca: Atago, escala: 0 – 32 ° Brix).
- pH-metro digital (Marca: Lovibond, modelo: SD50).

3.2.4. Reactivos

- NaOH (0.1 N).
- Fenolftaleína.
- Ácido ascórbico (0.1 %).
- Ácido gálico.
- Ácido oxálico (0.4 %).
- 2,6 dicloroindofenol (0.0012 %).
- Folin Ciocalteu (2N).
- Carbonato de sodio (10 %).
- Metanol (80 %).
- NaOH (5 M).
- NaCl.

3.2.5. Agentes para la gelificación

- Alginato de sodio (Viscosidad: 700 - 800 mPa.s).
- CaCl₂ (99.8 %, PM= 147.02).

3.3. Métodos de análisis físico, fisicoquímico y compuestos bioactivos del tumbo

3.3.1. Análisis de propiedades físicas

Para determinar las propiedades físicas del tumbo se realizó los siguientes análisis de acuerdo a los métodos descritos en Encina y Carpio (2011) con modificaciones. Se tomó al azar 10 frutos de tumbo (Figura 10) y se analizó el color (Visualmente), textura (Tacto), el tamaño (Longitud y diámetro) se determinó con un pie de rey y el peso con una balanza digital.

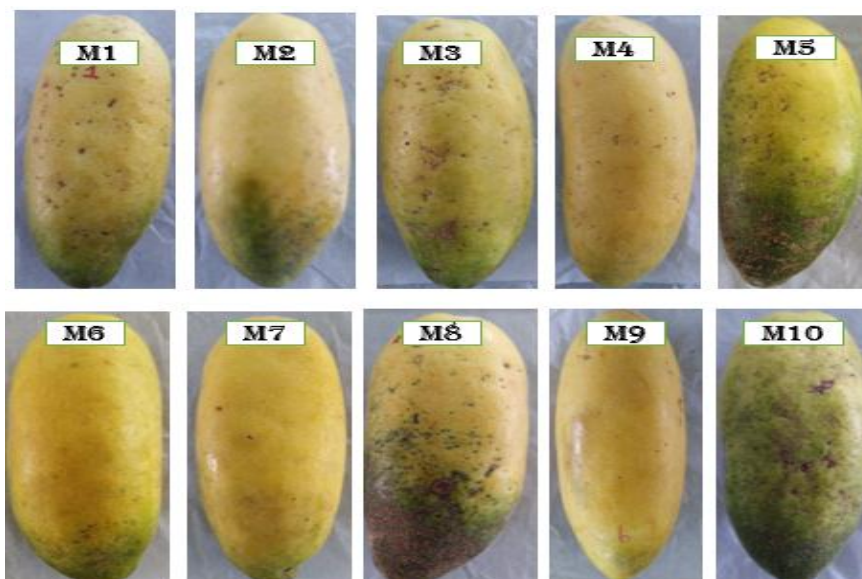


Figura 10. Muestras de tumbo elegidas al azar para analizar sus características físicas

3.3.2. Propiedades fisicoquímicas

Para determinar las características fisicoquímicas del tumbo se realizó los siguientes análisis de acuerdo a los métodos descritos en Asociación Oficial de Análisis Químico (AOAC).

- **Humedad (%):** Método de gravimetría, a 105 °C por 5 h, según AOAC (2016).
- **Sólidos solubles (°Brix):** Por el método refractométrico a 20 °C, según AOAC (2016).
- **pH:** Mediante el método potenciométrico, según AOAC (2016).
- **Acidez titulable:** Por el método de titulación visual con NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador, según AOAC (2016).

3.3.3. Cuantificación de ácido ascórbico

El ácido ascórbico se determinó por el método de espectrofotometría, expresado como mg ácido ascórbico/100g muestra, según la metodología de Riveros (2015) y Cervantes, Pimentel y Pinzón (2017) con modificaciones.

Se tomó 20 mL de extracto de tumbo y se centrifugó a 4000 rpm por 15 min, luego se filtró el sobrenadante con papel filtro. Posteriormente se tomó 3 mL de la

muestra filtrada y se enrazó con ácido oxálico al 0.4 % en una fiola de 100 mL y se midió la absorbancia a 420 nm, como se muestra a continuación.

I. 10 mL de agua destilada.

II. 1 mL de ácido oxálico al 0.4% + 9 mL de 2,6 dicloroindofenol al 0.0012% (L1).

III. 1mL de muestra + 9 mL de agua destilada.

IV. 1 mL de muestra + 9 mL de 2,6 dicloroindofenol al 0.0012 % (L2)

Se calculó L1 - L2 y la concentración de ácido ascórbico mediante la curva estándar y la ecuación.

$$\text{Ac. Ascórbico} \left(\frac{\text{mg}}{100 \text{ mg}} \text{ o } \frac{\text{mg}}{100\text{ml}} \right) = \frac{C \times D}{M} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde:

C: concentración de AA (Ácido ascórbico) determinada por la curva de calibración (mg/100mL).

D: Volumen de dilución de la muestra (mL)

M: Peso de la muestra (g o mL); g (gramos) si la muestra es seca o en polvo y mL si la muestra es líquida.

3.3.4. Cuantificación de fenoles totales

Se cuantificó por el método de Folin Ciocalteu (García, Fernández y Fuentes, 2015) con modificaciones.

El extracto metanólica se preparó con 3 mL de extracto de tumbo más 6 mL de metanol al 80 %, luego se centrifugó a 4000 rpm por 20 min a 10 °C y se filtró con papel filtro a vacío.

Se tomó 1 mL extracto metanólica de tumbo y se añadieron 99 mL de agua destilada (1:100), luego de esta dilución se retiró 100 µL y se le añadieron 400 µL de reactivo Folin Ciocalteu a 2 N (1:5 H₂O destilada) y se agitó a 800 rpm por 8 min en un agitador Vortex. Luego, 2000 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 10 % fueron agregados y el contenido reposó 30 min.

La absorbancia fue medida a 765 nm en un espectrofotómetro y finalmente, la concentración de fenoles totales fue determinada utilizando una curva estándar de ácido

gálico (mg/mL). El resultado se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 mL de extracto de tumbo líquido mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Fenoles totales} \left(\frac{\text{mg de ácido gálico (EAG)}}{100 \text{g de muestra}} \right) = FT \times \frac{V(\text{ml})}{m(\text{g})} \times FD \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde:

FT: concentración de FT (fenoles totales) determinada por la curva estándar (mg de ácido gálico/ 100 mL).

V: volumen del extracto (mL).

M: peso de la muestra líquida (mL).

FD: factor de dilución (mL de agua destilada / mL de extracto metanólica).

3.4. Proceso de extracción del extracto del tumbo serrano

El flujo de operación para la extracción del tumbo serrano se muestra en la Figura 11 y se describen a continuación.

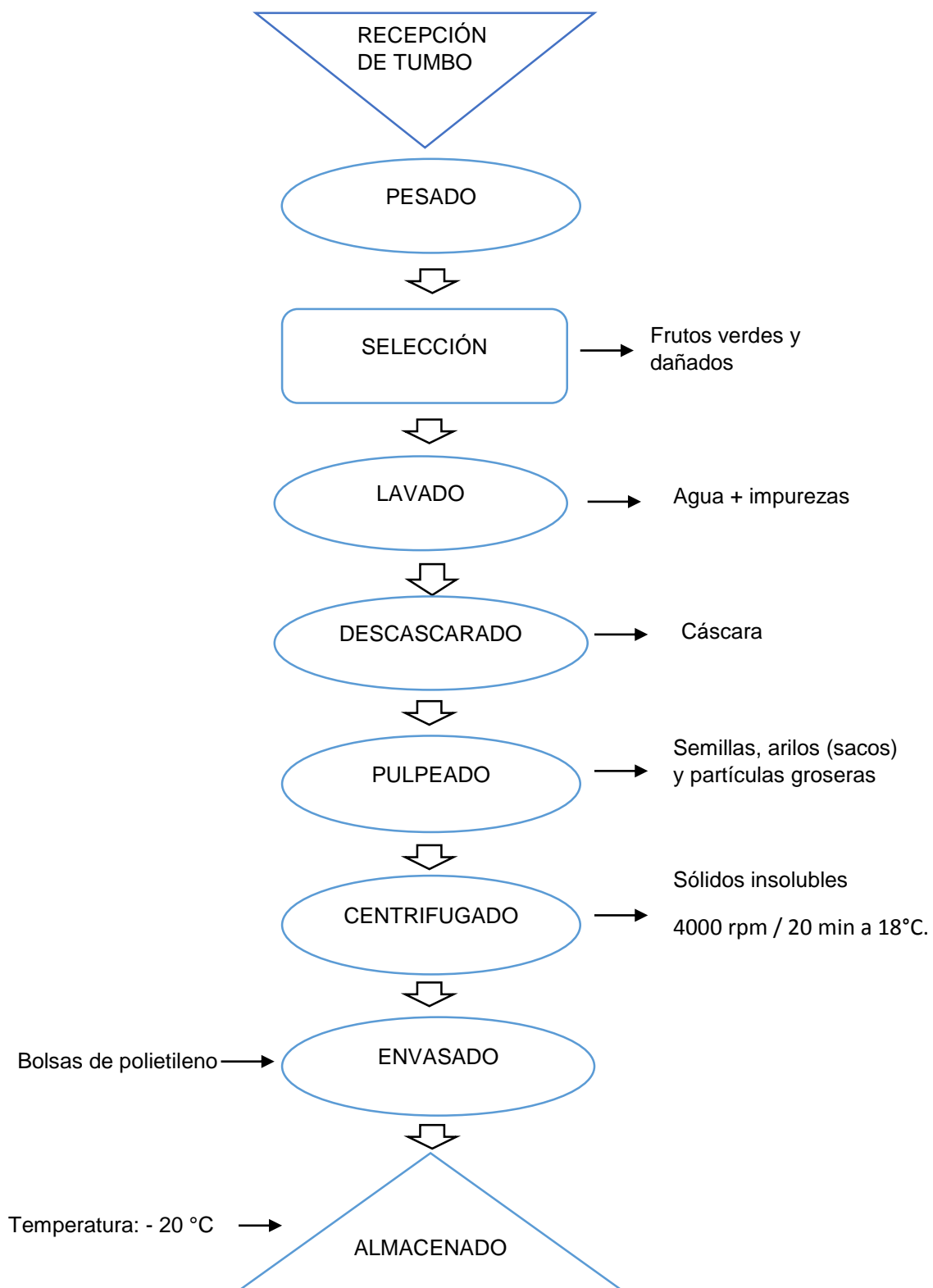


Figura 11. Flujograma para la extracción del extracto del tumbo

❖ **Pesado**

Se registró el peso del tumbo.

❖ **Selección**

La selección permitió obtener frutos sin daños físicos, lo cual evitó contaminar el producto final y permitió contar con los mejores frutos en su estado de maduración (Pitón).

❖ **Lavado**

El lavado se realizó con agua potable circundante eliminando las partículas extrañas que se encuentren adheridas a la superficie de los frutos.

❖ **Descascarado**

En este proceso se retiró las cáscaras del tumbo con un cuchillo y así facilitar el proceso de despulpado.

❖ **Pulpeado**

El pulpeado se realizó utilizando la maquina despulpadora de frutas con una malla de 2 mm, permitiendo separar la pulpa de los arilos y semillas.

❖ **Centrifugado**

El centrifugado se realizó con una centrifuga con refrigeración a 4000 rpm por 20 min a 18 °C. Cuya finalidad fue separar los sólidos insolubles del jugo o extracto.

❖ **Envasado**

En este proceso se envasó el extracto del tumbo serrano en bolsas de polietileno y sellada con una selladora eléctrica. Se cubrió con bolsa negra para aislar del medio ambiente que lo rodea.

❖ **Almacenado**

El producto envasado fue almacenado en una congeladora a temperatura de -20 °C hasta el momento de su uso.

3.5. Proceso de encapsulación por gelificación iónica

El flujo de operación para la encapsulación del extracto de tumbo se muestra en la Figura 12.

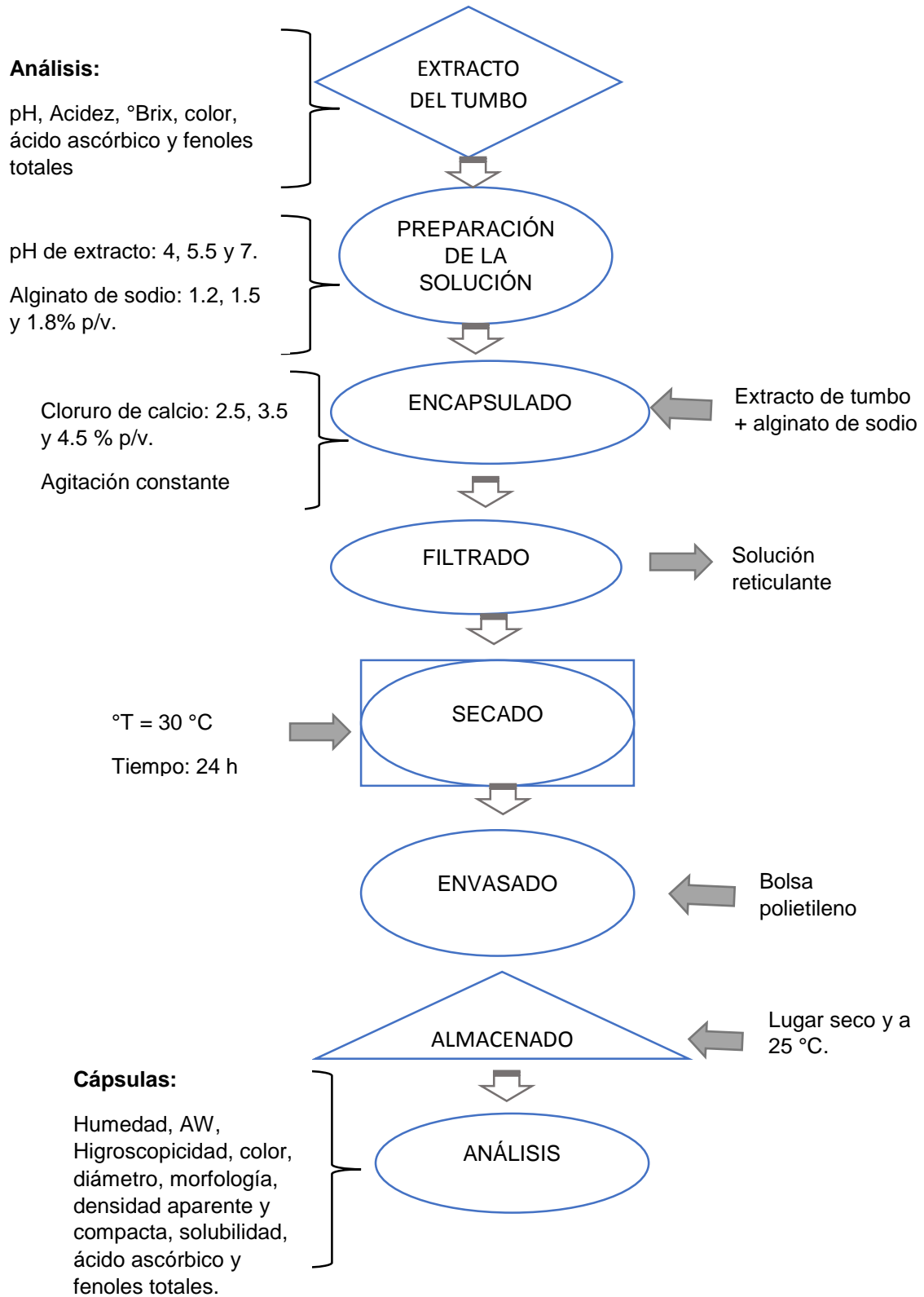


Figura 12. Flujograma de proceso de encapsulación

3.5.1. Preparación de la solución de alginato

Se preparó 200 mL de solución con Alginato de sodio al 1.2, 1.5 y 1.8 % p/v y se ajustó el extracto de tumbo a pH 4, 5.5 y 7 (se incrementó el pH con NaOH al 5 M), a continuación, se homogenizó a 2000 rpm durante 20 min a 25°C hasta obtener una mezcla homogénea. Siempre se mantuvieron las soluciones cubiertas con plástico stretch film color negro, con la finalidad de evitar la degradación de los compuestos bioactivos del extracto del tumbo.

3.5.2. Preparación de la solución reticulante

Se preparó 200 mL de solución al 2.5, 3.5 y 4.5 % p/v de CaCl₂ y agua destilada. Se mantuvo en agitación continua durante 10 min a 200 rpm a 25 °C, logrando así una solución transparente y homogénea.

3.5.3. Formación de cápsulas por gelificación

Para la obtención de las cápsulas (esferas) se aplicó el método de gelificación iónica por goteo según López (2012) con modificaciones.

Las soluciones de alginato se suministraron al sistema de encapsulación (Figura 13) construida de acuerdo a las condiciones requeridas. Dicha suspensión fue goteada sobre la solución reticulante descrita anteriormente, bajo agitación constante a 750 rpm. Finalizado el goteo se mantuvieron en agitación durante 40 min y después, las cápsulas fueron filtradas con un colador de acero inoxidable, descartando la solución reticulante. Por último, se secó las cápsulas a 30 °C por 24 horas y se envasó en bolsa polietileno.

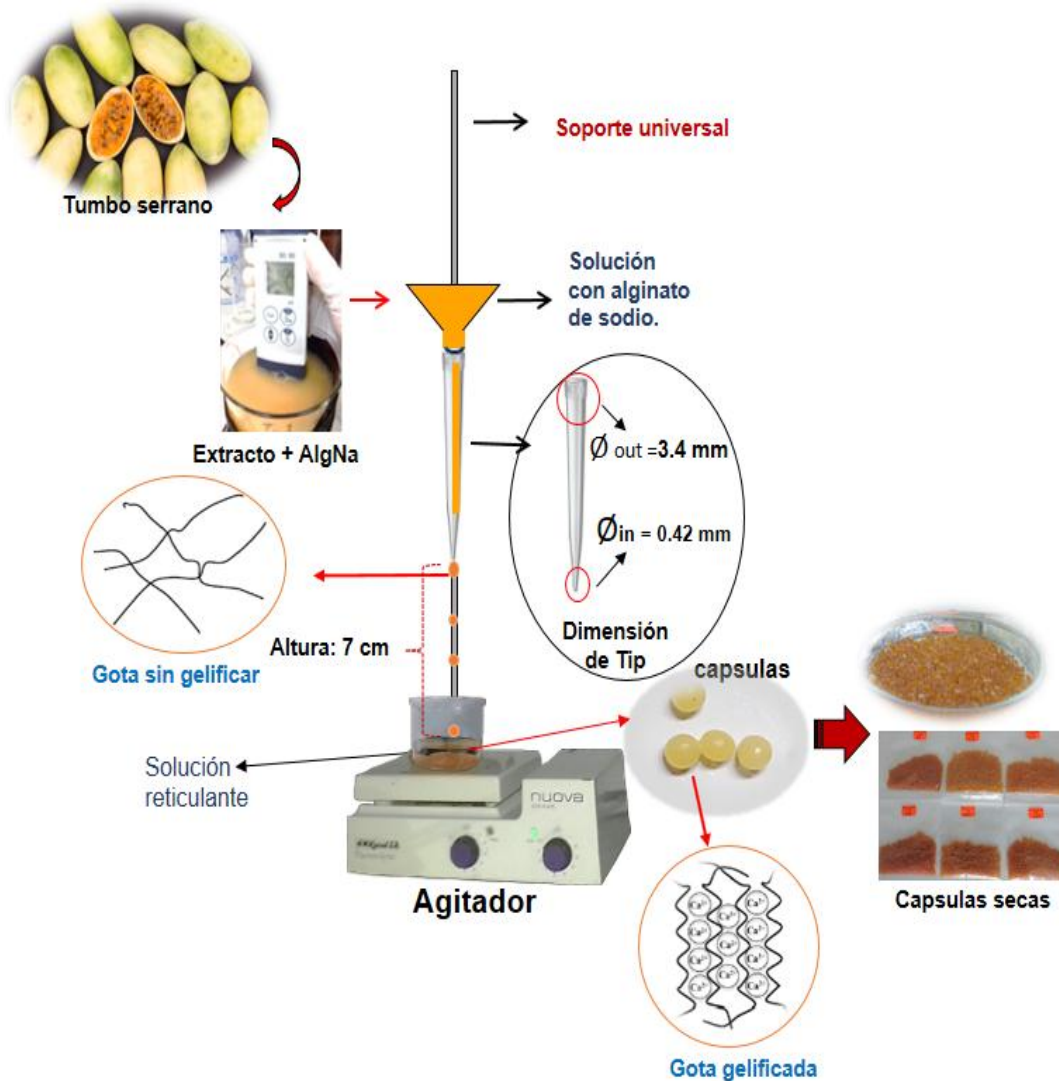


Figura 13. Sistema de encapsulación por gelificación iónica

3.6. Métodos de análisis de las cápsulas

3.6.1. Determinación de eficiencia de encapsulación de compuestos bioactivos

3.6.1.1. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico

Según la metodología de Khalida, Kobayashi, Neves, Uemuraa, Nakajimaa y Nabetani (2014) y Cervantes, Pimentel y Pinzón (2017) con modificaciones.

Se tomó 1.5 g de las cápsulas secas trituradas y 50 mL de ácido oxálico al 0.4 %, a continuación, se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min a 18 °C y finalmente se hizo la lectura de la absorbancia a 420 nm con un espectrofotómetro digital.

Para calcular la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico se utilizó la ecuación 3, que se muestra a continuación.

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \frac{\text{Cantidad de ácido ascórbico encapsulado}}{\text{Cantidad teórica de material activo}} \times 100$$

(Ecuación 3)

3.6.1.2. Eficiencia de encapsulación de fenoles totales.

Se determinó por medio del método de Folin Ciocalteu (García, Fernández y Fuentes, 2015 y Kuhn, 2013) con modificaciones.

Preparación del extracto:

Se usó 1 g de cápsulas secas trituradas más 20 mL de metanol al 80 %, la mezcla se dejó macerado durante una noche (15 h) y luego se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min a 10 °C. Posteriormente se retiró el sobrenadante y al precipitado se volvió a añadir 20 mL de metanol al 80 % y nuevamente se centrifugó durante 20 min. Al final, se retiró nuevamente el sobrenadante y se mezcló con lo anterior, la mezcla de ambos se utilizó como extracto metanólica para la determinación de fenoles totales.

Lectura en el espectrofotómetro

Para realizar la lectura, primero se diluyó el extracto metanólica en 1:20 con agua destilada, se retiró 100 µL y se le añadieron 400 µL de reactivo Folin Ciocalteu (1:5 H₂O destilada) y se agitó a 800 rpm durante 8 min. Luego, se añadió 2000 µL de carbonato de sodio al 10 % y el contenido reposó durante 30 min y la absorbancia fue medida a 765 nm.

Para calcular la eficiencia de encapsulación de fenoles totales se utilizó la ecuación 4, que se muestra a continuación.

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \frac{\text{Cantidad de fenoles totales encapsulado}}{\text{Cantidad teórica de material activo}} \times 100$$

(Ecuación 4)

3.6.2. Determinación de propiedades fisicoquímicas

3.6.2.1. Higroscopicidad

Se determinó de acuerdo a Silva, Da Costa, Martins da, Sartoratto, Ferreira y Dupasc (2016) con modificaciones. Se colocaron 0.5 g de cápsulas a 20 °C en una campana de desecación que contenía la solución saturada de NaCl (75.3 % de humedad relativa) y la ganancia en peso debida a la adsorción de humedad se registró durante una semana.

$$\text{Higroscopicidad (\%)} = \frac{b+wi}{1+\frac{b}{a}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde:

a: Cantidad de muestra (g).

b: Cantidad de humedad del polvo antes de exponerse a H. R. (g)

wi: Incremento de la cantidad de humedad del polvo (g).

3.6.2.2. Humedad

El contenido de humedad se determinó mediante el equipo analizador de humedad a una temperatura de 130 °C por 10 min, cada muestra por tres repeticiones.

3.6.2.3. Determinación de Aw

La actividad de agua se midió con el equipo AQUALAB, a 25 °C.

3.6.2.4. Análisis de la solubilidad de las cápsulas.

Se colocó 1g de muestra en 100 mL de agua destilada, se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min, se tomó una muestra representativa de 25 mL del sobrenadante y se pasó a placas Petri. Finalmente se secó en estufa a 105 °C por 5 h (Murga, 2014). La solubilidad se calculó por diferencia de peso y expresado en porcentaje (%).

3.6.3. Evaluación de las propiedades de flujo de las cápsulas

3.6.3.1. Densidad aparente

La densidad a granel es la masa de las cápsulas dividida entre el volumen aparente. Se pesó 1 g de muestra y se agregó a una probeta de 25 mL, se midió el desplazamiento del volumen que ocupó las cápsulas (Ortiz, 2016). La densidad se calculó con la siguiente ecuación:

$$DA = \frac{M}{V} \quad (\text{Ecuación 6})$$

donde

DA es la densidad aparente, M es el peso de la muestra en gramos y V es el volumen de la muestra en mL

3.6.3.2. Densidad compacta

La densidad compacta es el volumen que ocupa la muestra después de compactarse. El volumen se midió después de golpear continuamente 50 veces las cápsulas, se anotó el volumen compacto (Ortiz, 2016). Se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$D_c = \frac{M}{V_c} \quad (\text{Ecuación 7})$$

donde

M es el peso de la muestra en gramos y V_c es el volumen de la muestra compactada en mL.

3.6.4. Análisis colorimétrico

El color se midió usando el colorímetro digital, con escala CIELAB (L^* , a^* y b^*). Las mediciones de color se expresaron en términos de luminosidad L^* y los parámetros de cromaticidad a^* y b^* (Kuehni, 2013).

L^* (Luminosidad o brillantez): 0 (oscuro) a 100 (claro)

a^* : - verde a + rojo

b^* : - azul a + amarillo

3.6.5. Caracterización estructural y morfológica de las cápsulas

3.6.5.1. Morfología

La morfología de las cápsulas producidas se observó en un estereoscopio óptico, las cápsulas fueron montadas en una porta muestras y se observaron a un aumento de 30X para evaluar su morfología de las cápsulas. Las imágenes se dimensionaron a 1 mm con la ayuda del programa Image J.

3.6.5.2. Tamaño

El diámetro de las cápsulas se midió con un pie de rey digital, se tomó al azar 100 cápsulas de cada tratamiento (Solís, 2016).

3.7. Diseño y análisis estadístico

3.7.1. Diseño estadístico

Se empleó el diseño factorial fraccionado 3^{k-1} (Montgomery, 1991). Para $k=3$ variables, obteniendo un total de 9 tratamientos experimentales y se trabajó con 2 réplicas.

Los factores y niveles (codificados o no codificados) son mostrados en el Tabla 10 y Tabla 11. Los datos se analizaron con el modelo de segundo orden sin interacciones como se observa en la ecuación (8), para conocer cómo es el comportamiento de las variables independientes frente a los resultados analizados (Rodrigues y lemma, 2014):

$$Z = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_2 X_2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_3 X_3 + \beta_2 X_3^2 \quad (\text{Ecuación 8})$$

donde

Z es la variable dependiente

β_0 : Coeficiente intercepto

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$: Coeficientes del modelo lineal y cuadrático, respectivamente.

X_1, X_2 y X_3 : Valores codificados de las variables independientes.

Tabla 10. Factores y niveles del diseño factorial fraccionado.

Codificado	Factores	Niveles		
		-1	0	1
X_1	pH	4	5.5	7
X_2	CaCl ₂ (%)	2.5	3.5	4.5
X_3	AlgNa (%)	1.2	1.5	1.8

Tabla 11. Diseño factorial fraccionado para cuantificar fenoles totales y ácido ascórbico

Tratamientos	Variables independientes						Variables dependientes	
	Codificado			No codificadas			Eficiencia de encapsulación	
	X ₁	X ₂	X ₃	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Fenoles totales (EAG/100g)
1	-1	-1	-1	4	2.5	1.2	-	-
2	-1	0	1	4	3.5	1.8	-	-
3	-1	1	0	4	4.5	1.5	-	-
4	0	-1	1	5.5	2.5	1.8	-	-
5	0	0	0	5.5	3.5	1.5	-	-
6	0	1	-1	5.5	4.5	1.2	-	-
7	1	-1	0	7	2.5	1.5	-	-
8	1	0	-1	7	3.5	1.2	-	-
9	1	1	1	7	4.5	1.8	-	-

3.7.2. Análisis estadístico

Fue generado el gráfico de curvas de contorno y superficie de respuesta tridimensional, fueron usados para mostrar la relación entre la respuesta y los niveles de cada variable independiente y verificar los parámetros óptimos en las cápsulas de extracto de tumbo serrano. El efecto de los factores fue analizado por análisis de varianza (ANOVA), estimación de efectos y gráfico Pareto a un intervalo de confianza de 95% ($p \leq 0.05$). Se obtuvo el ajuste del modelo para coeficientes significativos para las respuestas analizadas, usando el software STATISTICA versión 13.1.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN




4.1. Caracterización de la materia prima

4.1.1. Análisis físico

Para la producción de las cápsulas se utilizó el tumbo serrano con un estado de madurez intermedio “pintón”, teniendo en cuenta lo reportado por Encina y Carpio (2011) quienes mencionan que el contenido de azúcar y ácidos está estrechamente relacionado con la madurez de la materia prima, donde la maduración del fruto presenta un descenso de la acidez e incremento de azúcares hasta un punto después del cual existe una degradación de compuestos bioactivos al encontrarse el fruto en un estado de sobremadurez.

La Tabla 12 muestra diferentes estados de madurez del tumbo serrano y sus características físicas.

Tabla 12. Estados de madurez del tumbo serrano y sus características físicas.

Verdes	Pintones	Maduros
		
Color: Verde Textura: dura al tacto	Color: Amarillo - verdosos Textura: Ligero ablandamiento	Color: Amarillo Textura: Blando

Respecto a las características físicas del tumbo en estado de madurez intermedio, se registró una coloración verde-amarillo y ligero ablandamiento, resultados similares reportaron Angón, Santos y Hernández (2006) que las características físicas de una fruta en estado de madurez intermedio (pintón) son: La superficie del fruto presenta una coloración de verde sobre amarillo, desarrollan un aroma característico e

indicios de ablandamiento. Con la maduración por lo general disminuye el color verde de las frutas debido a una disminución de su contenido de clorofila y a un incremento en la síntesis de pigmentos de color amarillo (carotenoides) (Encina y Carpio, 2011).

En la Tabla 13 se muestra las características físicas del tumbo en estado de madurez pintón, analizados en 10 unidades de tumbo que fueron elegidos como muestra al azar para el respectivo análisis, se obtuvo una longitud promedio de 11.23 cm, diámetro 4.3 cm y peso de fruta entera 102.88 g. Se consideró también, los parámetros de calidad como: tamaño uniforme, fresca, limpia, grado de madurez, color típico, libre de daños por ataque de insectos y entre otros.

Tabla 13. Características físicas del tumbo en estado de madurez intermedio (Pintón)

Medidas biométricas		Valor
Forma		Elíptica
Tamaño	Longitud (cm)	11.23 ± 0.744
	Diámetro (cm)	4.3 ± 0.240
Peso	Fruta entera (g)	102.88 ± 8.695

Las medidas registradas de la materia prima se encuentran dentro del rango de los datos reportados por la FAO (2007), donde en su descripción botánica es considerado como un fruto de forma elíptica algo alargados, de cáscara gruesa y la pulpa aromática; sus dimensiones varían de 6 a 20 cm de largo, de 3 a 7 cm de diámetro y peso promedio de 90 g.

4.1.2. Análisis fisicoquímico del extracto del tumbo

Los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos del extracto de tumbo serrano se observan en la Tabla 14, se muestran el pH, acidez titulable, sólidos solubles y humedad.

Tabla 14. Análisis fisicoquímico del tumbo.

Características	Cantidad
Humedad (%)	86.45 ± 0.646
pH	3.42 ± 0.006
Sólidos solubles (°Brix)	13.23 ± 0.057
Acidez titulable (% de ác. Cítrico/100mL)	2.59 ± 0.070

El tumbo serrano presentó el contenido de humedad 86.45 % ± 0.646, un pH de 3.42 ± 0.006, sólidos solubles 13.23 °Brix ± 0.057 y acidez titulable 2.59 % ± 0.070.

En el extracto de tumbo procedente de Huancayo, Cárdenas y Huamán (2015) reportaron una humedad de 91 %, pH 3.4, sólidos solubles 10 °Brix y acidez titulable 2.35 % de ácido cítrico. Encina y Carpio (2011) registraron en pulpa de tumbo una humedad de 87.32 %, pH 3.28, sólidos solubles 12 °Brix y acidez titulable 4.1 %.

Según FAO (2007 y 2006) el pH del tumbo varía desde 3.5 a 4.5 según el estado de madurez, aumentando a medida que el fruto madura y esto se debe a que las enzimas propias del fruto descomponen a la clorofila y endulzan el fruto. El tumbo debe presentar 10 °Brix como mínimo para ser cosechado.

Los datos obtenidos en esta investigación presentan una ligera variación frente a lo reportado por los autores mencionados anteriormente, esto se debe a las diferencias de estado de maduración (mayor estado de maduración disminuye los ácidos orgánicos, el almidón y aumenta el contenido de azúcares), climáticas (influencia de la luz solar) y ambientales (contenido de nutrientes del terreno) por la diferencia geográfica (Chaparro et al., 2015).

4.1.3. Compuestos bioactivos del extracto del tumbo.

En la Tabla 15 se muestra los resultados del contenido de ácido ascórbico y fenoles totales del extracto de tumbo serrano.

Tabla 15. Compuestos bioactivos en el extracto del tumbo

Componentes	Contenido
Ácido ascórbico (mg/100 g)	70.04 ± 0.0014
Fenoles totales (mg ácido gálico (GAE)/100 g)	2145.81 ± 0.067

El contenido promedio del ácido ascórbico del extracto del tumbo serrano fue 70.04 mg/ 100 g ± 0.0014; valor similar reportó Ocampo (2014) en tumbo serrano peruano con 70.1 mg/100 g de ácido ascórbico, en la parte comestible y valores cercanos Encina y Carpio (2011) quienes registraron el contenido de ácido ascórbico de 61.80 ± 3.58 mg/100 g en la pulpa del tumbo (*Passiflora mollisima* H.B.K. Bayley) proveniente de Ayacucho en estado de madurez intermedia. Cárdenas y Huamán (2015) reportaron 69.28 mg de ácido ascórbico en 100 g en jugo de tumbo (*Passiflora mollisima*) en estado de madurez pintón, proveniente de Huancayo y según el Instituto Nacional de Salud (2009) el tumbo presenta 66.70 mg/ 100 g de ácido ascórbico, siendo la fruta rica en ácido ascórbico.

Chaparro et al (2015) reportaron el contenido de ácido ascórbico de la fruta curuba larga (*Passiflora mollisima* Bailey) colombiana, valores de: 40.5 mg/100 g de porción comestible y 61.5 mg/100 g de ácido ascórbico de jugo fresco. En comparación con el resultado obtenido son valores bajos y según Valencia Sullca, Cristina y Guevara (2013) estas variaciones se deben al utilizar distintos métodos de cuantificación, tipo de muestra (líquida y sólida), estado de madurez del fruto y por distintos lugares de procedencia.

En la Figura 14 se observa la capacidad de poder reductora del ácido ascórbico frente al reactivo 2,6 dicloroindofenol, la reacción de ambos ocasiona cambio de color, adquiriendo una coloración rosada.



Figura 14. La capacidad de reducción del ácido ascórbico del extracto de tumbo frente al reactivo 2,6 dicloroindofenol

El resultado promedio de fenoles totales en el extracto de tumbo fue 2145.81 ± 0.067 mg de ácido gálico (GAE) / 100 g muestra fresca; valor cercano retribuyeron Muñoz, Ramos-Escudero, Ortiz y Castañeda (2007) en su trabajo de evaluación de compuestos fenólicos, usando el método Folin-Ciocalteu en recursos vegetales promisorios peruanos, encontrando el valor de fenoles totales en tumbo serrano de 1478.26 mg de GAE/ 100 g de materia fresca e indican que es el fruto con mayor contenido de fenoles totales siguiendo al fruto de Camu -Camu.

Otros frutos investigados reportaron el contenido de compuestos fenólicos, en uva rosada 93 mg/100 g, uva blanca 95 mg/100 g, ciruelo 200 mg/100 g, naranja 217 mg/100 g, toronja rosada 425 mg/100g, manzana “gala” 132 mg/100 g y kiwi 273 mg/100 g; siendo superados por el tumbo serrano y camu-camu (Cieslik, Greda y Adamus, 2006).

Rojano, Zapata y Cortes (2012) encontraron en la pulpa de curuba colombiana el contenido de fenoles totales igual a 5 012.8 mg de ácido gálico/100 g de pulpa, los extractos fueron preparados con hexano y para la parte lipofílica con acetona y agua con 7 % de metil α -ciclodextrina en una relación (1:1). Chaparro et al (2015) obtuvieron un valor de 4690.10 ± 28.24 mg ácido gálico (GAE)/100 g de porción comestible fresca, por lo tanto, frente a estés valores mencionados el resultado obtenido

es menor y esto se debe a la diferencia del método para la obtención del extracto para el análisis, el uso de muestra (pulpa o extracto acuoso de tumbo) y por las diferencias geográficas que pueden influir en el contenido de estos compuestos.

Contreras, Calderón, Guerra y García (2011) registraron 635 ± 2.71 mg GAE/100 g de peso fresco y Vasco, Ruales, y Afaf (2008) consiguieron un valor de 1010 ± 198 mg GAE/100 g de peso fresco de la muestra, de frutos procedentes de Ecuador.

En la Figura 15 se observa la oxidación del reactivo Folin-Ciocalteu por la presencia de fenoles totales, la reacción de ambos ocasiona la viración de color, adquiriendo una coloración azul.

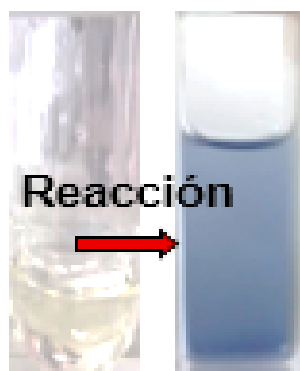


Figura 15. Oxidación del reactivo de Folin-Ciocalteu

4.2. Obtención de cápsulas por gelificación iónica

Se obtuvo cápsulas húmedas con forma esférica en todos los tratamientos a una distancia de encapsulación de 7 cm y presentaron diferencias en su coloración y forma en las cápsulas secas, por la variación de pH en el extracto de tumbo. Las cápsulas obtenidas a pH 4 muestran el color naranja, que es relativamente similar al color del extracto fresco de tumbo (Figura 16).

Corroborando con otros estudios, afirman que a una distancia de 7-10 cm, la gota líquida es capaz de superar las fuerzas de impacto y arrastre para formar partículas de gel esféricas (Blandino, Macias y Cantero, 1999).

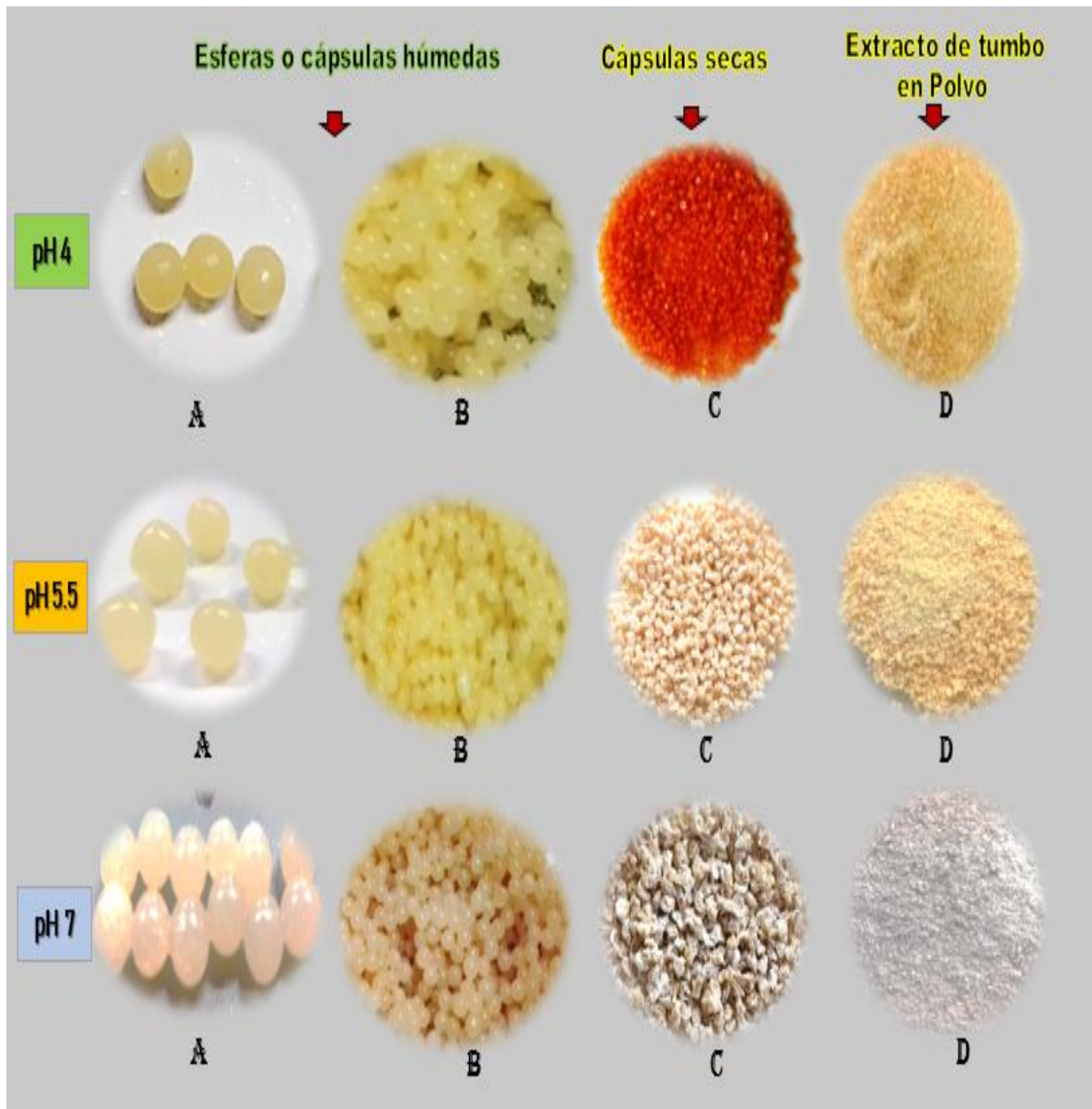


Figura 16. Morfología de cápsulas desarrolladas por el método de gelificación iónica por goteo

4.3. Eficiencia de encapsulación de los compuestos bioactivos

4.3.1. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico

Los resultados referentes a la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico.

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Eficiencia de encapsulación
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	50.95 ± 1.315	73 ± 0.019
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	64.09 ± 0.329	92 ± 0.005
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	66.73 ± 0.658	95 ± 0.009
T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	39.22 ± 0.949	56 ± 0.014
T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	43.72 ± 0.329	62 ± 0.004
T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	52.04 ± 0.827	74 ± 0.012
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	41.2 ± 0.379	59 ± 0.005
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	47.12 ± 1.369	67 ± 0.019
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	37.04 ± 1.483	53 ± 0.021

La eficiencia de encapsulación varió entre 53 % ± 0.021 a 95 % ± 0.009, obteniéndose mayor porcentaje en el tratamiento tres a pH 4, con 4.5 % de cloruro de calcio y 1.5 % de alginato de sodio.

El análisis de varianza (ANOVA) para la variable eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico se muestra en la Tabla 17. Se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) = 0.8528 al 95 % de nivel de confianza y muestra los factores de mayor efecto a la respuesta analizada, siendo el pH (L y Q) y concentración de cloruro de calcio (L y Q) considerando el $p < 0.05$. Siendo el factor con mayor influencia el pH (L), por presentar mayor valor de F (80.88), seguido por el porcentaje de cloruro de calcio lineal (CaCl₂) utilizado en la solución reticulante (F= 15.17) y según la gráfica de Pareto y la tabla de estimación de efectos (Anexo 5). La concentración de alginato de sodio no fue significativo.

Tabla 17. Resultados de ANOVA y efecto en la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico

FACTOR	SS	df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	3248.320	1	3248.320	80.88446	0.000000*	-26.8676*
pH (Q)	469.067	1	469.067	11.67996	0.002728*	-8.8418*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	609.288	1	609.288	15.17152	0.000899*	11.6360*
CaCl ₂ (%) (Q)	174.660	1	174.660	4.34910	0.050051	5.3954
(3) AlgNa (%) (L)	97.268	1	97.268	2.42200	0.135325	-4.6492
AlgNa (%) (Q)	56.002	1	56.002	1.39448	0.251504	3.0551
Error	803.200	20	40.160			
Total SS	5457.805	26				
R²	0.8528					
R adj	0.8087					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se analizó los datos de la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico mediante las gráficas de superficie de respuesta y curva de contorno, que se muestran en la Figura 17 acorde a la interacción de los factores donde: La gráfica (a y b) indican que a menor pH (4) y al incremento de concentración de cloruro de calcio (4 %), será mayor la eficiencia de encapsulación del ácido ascórbico; la gráfica (c y d) muestra que a menor pH (4) y siendo independiente la concentración de alginato de sodio es mayor la respuesta analizada y la gráfica (e y f) indica parámetros óptimos siendo 4 % de CaCl₂ y 1.4 % de AlgNa con 70 % o mayor de eficiencia de encapsulación de ácido ascórbico.

La eficiencia de encapsulación (EE %) del ácido ascórbico fue significativamente mayor en las cápsulas elaboradas a pH 4, mientras que en las cápsulas a pH 5.5 y 7 la eficiencia fue menor, dado que al incremento del pH la eficiencia fue disminuyendo. Esto se debe a que el ácido ascórbico se altera fácilmente por los cambios de pH, la acción de la temperatura, la luz y los iones metálicos (Cahuaya, 2017). Además, es más estable a medida que el pH del medio es más ácido y natural (Murga, 2014).

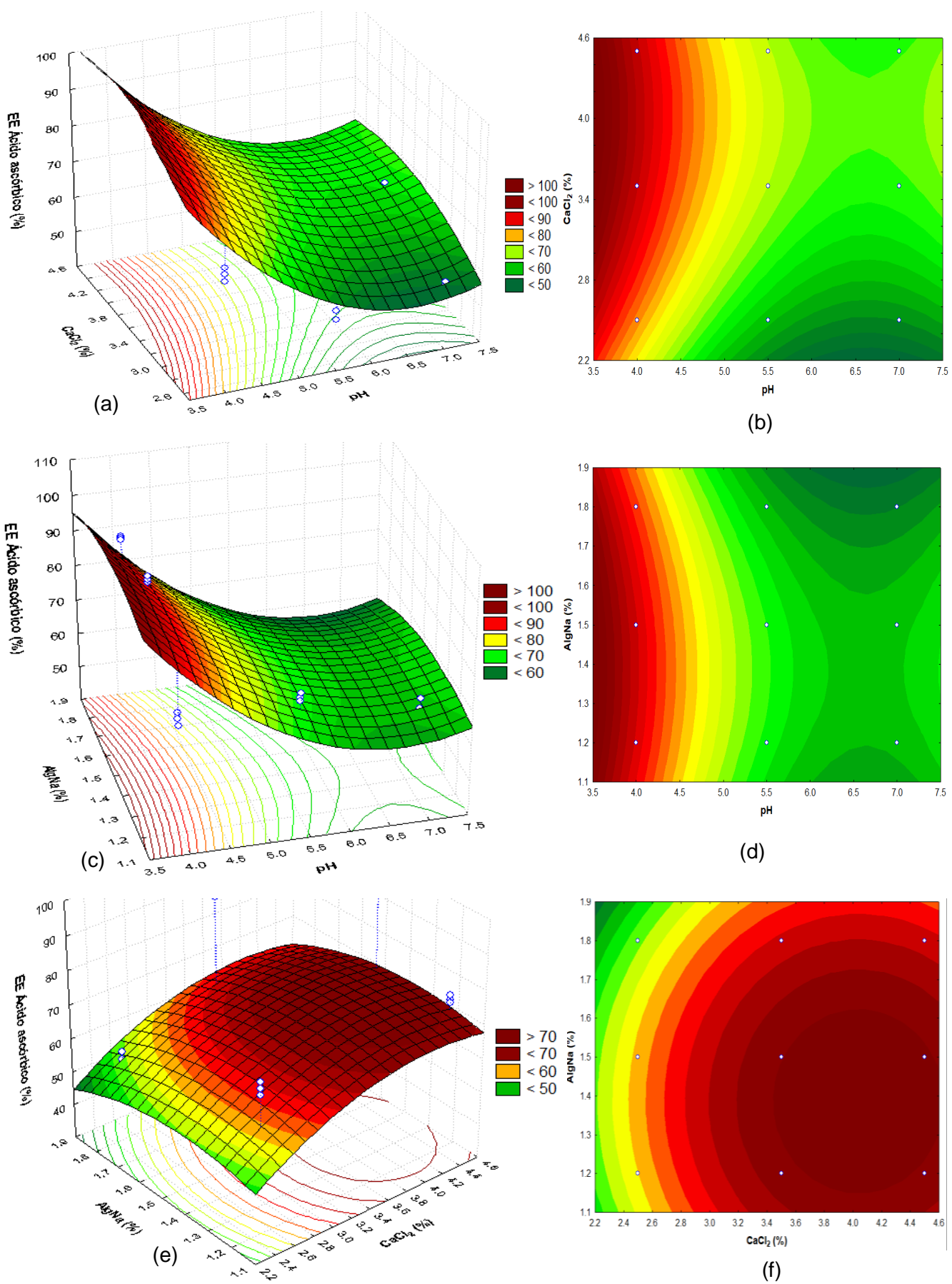


Figura 17. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la EE del ácido ascórbico (%) en función a CaCl₂ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl₂ (%) (e) y (f).

Se generó un modelo sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 5), el comportamiento de los variables sobre la eficiencia de encapsulación de ácido ascórbico fue:

$$\text{EE del ácido ascórbico (\%)} = 86.8378 - 52.1824(X_1) + 3.9297(X_1)^2 + 43.856(X_2)$$

(Ecuación 9)

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl_2

Existe información reducida permiten comparar valores asociados a la cantidad de ácido ascórbico encapsulado en cápsulas de AS.

La técnica de encapsulación por gelificación iónica por consistir en un entrecruzamiento iónico entre los iones de la molécula divalente (calcio) y las unidades de ácido gulurónico de alginato, dan lugar a un gel conocido como "modelo de caja de huevo". El alginato de sodio en contacto con los iones de calcio forma un gel instantáneamente; los iones se siguen difundiendo en el alginato, produciendo el endurecimiento del gel con el paso del tiempo de interacción y basado en el peso del alginato se requiere de 7.2 % de calcio para lograr una sustitución completa; sin embargo, con solo 2.2 % de calcio se logra la formación del gel. Referente a esta información en este trabajo se observó, que al disminuir la concentración de cloruro de calcio es probable que existió el desequilibrio de iones divalentes causando una sustitución incompleta de calcio en las cápsulas y disminuyendo la EE % del ácido ascórbico (Pacheco-Aguirre, Rosado-Rubio, Betancur-Ancona y Chel-Guerrero, 2008).

Chan (2011) planteó que un aumento en la concentración del núcleo y/o combinado con una baja concentración del polímero pared genera una disminución de la EE. En este estudio no variaron la concentración del núcleo, pero sí la material pared (AS) y el material reticulante (CaCl_2), cuando el AS se aumentó en las diferentes proporciones y el cloruro de calcio se fueron disminuyendo, es probable que fue aquello que habría generado un colapso del AS como matriz en el secado, disminuyendo la EE %, debido a que afectaría el grado de reticulación de la superficie de las cápsulas,

resultando un factor determinante para disminuir la formación de poro y evitar difusión del material núcleo.

Cárdenas y Huamán (2015) al realizar el estudio de secado por atomización del extracto acuoso de tumbo usando goma arábiga y carboximetilcelulosa; de entre todos los tratamientos obtuvieron el mayor concentración de ácido ascórbico en el tratamiento con 5 % de carboximetilcelulosa, a temperatura de 140 °C con contenido de 390.56 ± 21.2 mg de ácido ascórbico/ 100 g y observaron que al incrementar el porcentaje del encapsulante el contenido del ácido ascórbico disminuye, esto debido que al incrementar el contenido de sólidos provenientes de encapsulante este se encuentra en mayor proporción que los sólidos provenientes de los componentes del tumbo (como el ácido ascórbico) (Guevara-Bretón y Jiménez-Munguía, 2008). La cual explica la mayor EE del ácido ascórbico obtenida en las cápsulas, que se trabajó en concentraciones bajas de alginato de sodio.

Hernández (2015) encontró resultados similares, al trabajar con *Fe Hem liofilizado* por el método de gelificación iónica, con la diferencia en que el material núcleo fue variando en las diferentes proporciones y mas no el AS, a partir de la proporción 1:05, disminuyendo la EE. Las pérdidas de compuestos bioactivos (ácido ascórbico) pueden ocurrir durante la extracción debido al contacto con el oxígeno y la exposición a la luz, caracterizada por una menor estabilidad del extracto bajo tales Condiciones (Lopes, Xavier, Quadri y Quadri, 2007).

4.3.2. Eficiencia de encapsulación de fenoles totales.

Los resultados referentes a la eficiencia de encapsulación de fenoles totales están dispuestos en la Tabla 18.

Los valores de la eficiencia de encapsulación de fenoles totales oscilaron entre $55 \% \pm 0.032$ a $90 \% \pm 1.002$.

Tabla 18. Resultados de la Eficiencia de encapsulación (EE %) de fenoles totales.

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Fenoles totales (mg EAG/100 g muestra)	Eficiencia de Encapsulación (%)
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	1503.76 ± 0.703	70 ± 0.008
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	1596.57 ± 0.566	75 ± 1.004
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	1678.64 ± 2.054	78 ± 0.002
T4	5.5 (0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	1735.46 ± 1.468	81 ± 0.009
T5	5.5 (0)	3.5 (0)	1.5 (0)	1825.73 ± 0.865	85 ± 0.006
T6	5.5 (0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	1926.74 ± 3.052	90 ± 1.002
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	1212.74 ± 0.016	57 ± 0.004
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	1526.49 ± 0.045	71 ± 2.018
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	1178.65 ± 4.013	55 ± 0.032

Según la Tabla 19 de análisis de varianza, la gráfica de Pareto y estimación de efectos (Anexo 4) los variables independientes que tuvieron un efecto significativo en la eficiencia de encapsulación de fenoles totales de las cápsulas con un $p < 0.05$ fueron: el pH (L y Q), concentración de cloruro de calcio (L y Q) y concentración de alginato de sodio (L). Se obtuvo un coeficiente de regresión (R^2) = 0.9310 y siendo el factor de mayor influencia el pH (Q) con mayor valor F (159.28).

Tabla 19. Resultados de ANOVA y efecto para EE % de fenoles totales en las cápsulas.

FACTOR	SS	Df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	813.127	1	813.127	68.6404	0.000000*	-13.4423*
pH (Q)	1886.884	1	1886.884	159.2819	0.000000*	17.7336*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	121.948	1	121.948	10.2943	0.004410*	5.2057*
CaCl ₂ (%) (Q)	158.530	1	158.530	13.3824	0.001562*	5.1402*
(3) AlgNa (%) (L)	217.687	1	217.687	18.3761	0.000360*	-6.9552*
AlgNa (%) (Q)	0.310	1	0.310	0.0262	0.873059	-0.2274
Error	236.924	20	11.846			
Total SS	3435.411	26				
R²	0.9310					
R adj	0.9104					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se generó un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 4), que demuestra el comportamiento de las variables sobre la eficiencia de encapsulación de fenoles totales:

$$\text{EE de fenoles totales (\%)} = -174.026 + 82.217 (X_1) - 7.882(X_1)^2 + 38.584(X_2) - 5.140 (X_2)^2 \quad (\text{Ecuación 10})$$

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl_2

En la Figura 18 se observa los efectos de las variables independientes sobre la eficiencia de encapsulación de fenoles totales. Siendo valores óptimos a pH 5.3, cloruro de calcio 3.7 % y menor concentración de alginato de sodio para obtener una eficiencia mayor a 90 %.

Los valores más altos de la eficiencia de encapsulación de fenoles totales en el presente trabajo se obtuvieron en cápsulas elaboradas a pH 4 y pH 5.5 y corroborando con Cuatzo (2010) en la encapsulación por gelificación iónica de puré de durazno, puré de cuitlacoche y jugo de uva-arándano con solución de alginato y con variación de pH (3, 3.5, 4, 5, 6 y 7), demostró que las mejores condiciones para encapsulación son a pH entre 4 y 6 para obtener una capa uniforme del encapsulado y que no exista alta cantidad de difusión de sólidos solubles y/o iones H^+ .

Al aumentar la concentración de alginato y al incremento de pH se obtuvo una solución más espesa, aquello implicó un mayor tiempo de recorrido en el embudo o equipo de encapsulación. Hernández, Iliana, Ventura, Belmares, Contreras, Michelena et al. (2016) indicaron que el tiempo de contacto de las partículas con la solución de cloruro de calcio no debe ser excesivo, debido a que facilitará la difusión del principio activo por gradiente de concentración; si bien es necesario un tiempo de reacción. Se observó en este trabajo que a pH 7 la solución fue más densa y su encapsulación fue en mayor tiempo que a pH inferiores, lo cual implica que las cápsulas o partículas estuvieron sumergidos a mayor tiempo en la solución de cloruro de calcio y la difusión de fenoles totales fue mayor de acuerdo a lo expuesto por el autor mencionado anteriormente.

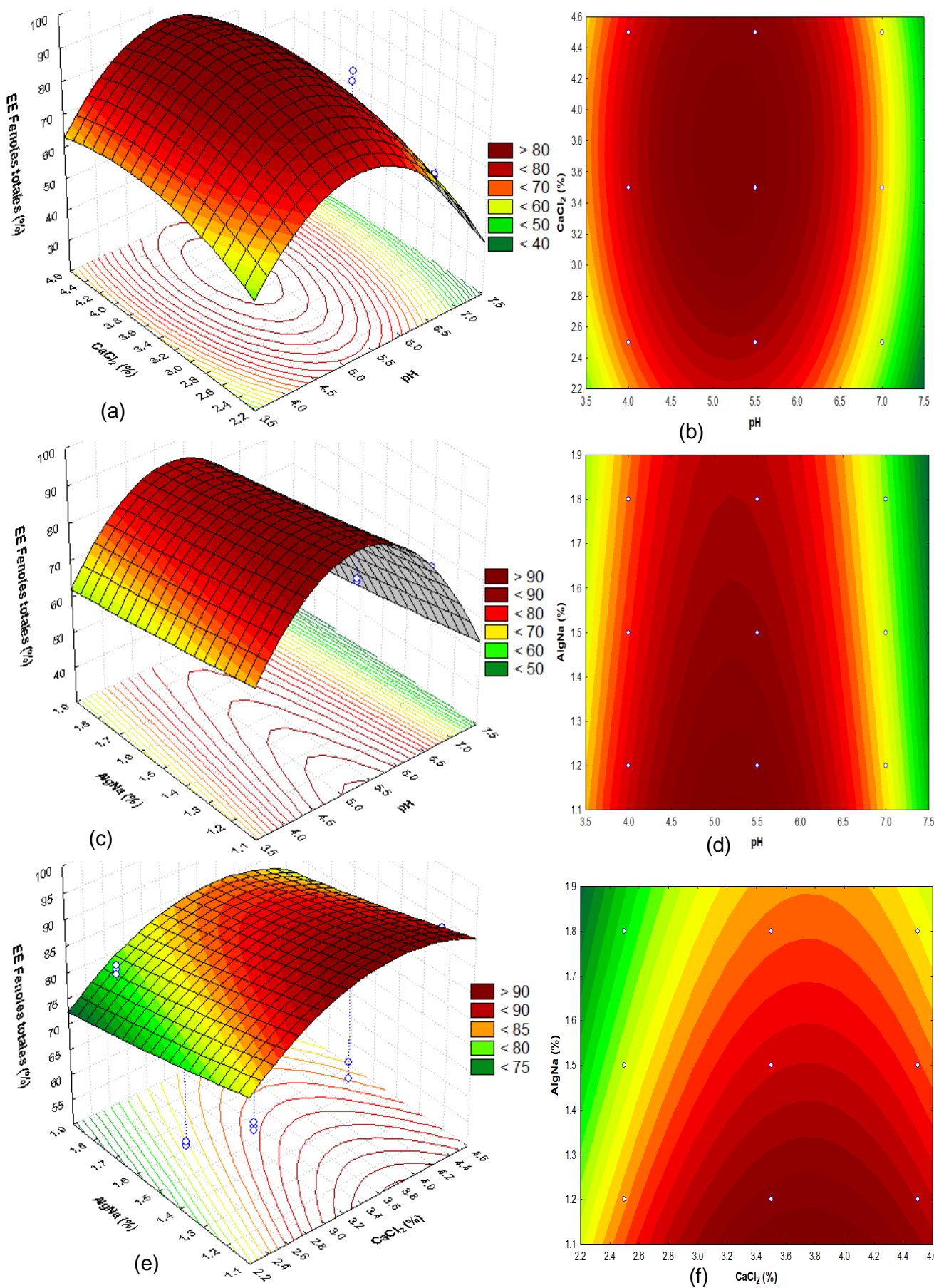


Figura 18. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la EE de fenoles totales (%) en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).

Su, Nidhi y Bhesh (2015) mencionaron que las partículas de alginato en gel experimentan cambios morfológicos y químicos bajo diferentes niveles de pH. A un entorno de pH bajo, las partículas de gel se encogen y el tamaño de los poros disminuye. A un pH neutro o por encima del neutro, las partículas de gel se hinchan y el tamaño del poro del gel aumenta. La exposición prolongada a altos niveles de pH inicia la disolución del gel de alginato. Esto reduce el peso molecular del polímero y hace que el gel sea más propenso a la desintegración cuando aumenta el pH (Gombotz y Wee, 1998).

El mecanismo por el cual un pH bajo causa la contracción del gel puede atribuirse a la condición de pH bajo, que suprime la disociación de los grupos carboxilo en las moléculas de alginato (Wu, Zhu, Chang, Zhang y Xiao, 2010). Los grupos carboxilo que están protonados forman una red de gel más compacta debido a la reducción de la repulsión electrostática entre los polímeros de alginato (You, Park, Park, Haam, Chung y Kim, 2001).

Para las observaciones sobre la hinchazón, dependiente del pH de los geles de alginato, Niedz y Evens (2009) sugirieron que el efecto de hinchamiento depende en parte de las concentraciones iónicas del ambiente en lugar de solo los niveles de pH. La presencia de agentes quelantes como EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), citrato o fosfato y altas concentraciones de Na^+ o Mg^{2+} aceleran el hinchamiento del gel, que es el precursor de la disociación del gel.

Parece ser un parámetro crítico en la producción de partículas, la influencia de la concentración de ión calcio que fue evaluada por el autor a diferentes concentraciones y observó que a medida que se incrementó la concentración, aumentó el rendimiento total de micropartículas y la encapsulación de principio activo (Martín et al, 2009).

Solís (2016) reportó en su trabajo, una combinación óptima para obtener las esferas de alginato con: 2 % alginato de sodio, 2 % cloruro de calcio y 5 min de gelificación, obteniendo una eficiencia de encapsulación de fitoesteroles de 70 % y en microcápsulas de diclofenac obtenidas por gelificación iónica, consiguieron el 81.04 %

± 0.64 de contenido de principio activo (Calero, Sánchez, Tórrez, Hernann y López, 2008).

Lupo, Maestro, Porras, Gutiérrez y González (2013) reportaron en su investigación, la eficiencia de polifenoles de cocoa que varió entre 53.61 % a 80 % en los diferentes tratamientos encapsulados por el método de gelificación iónica interna. Comparando con los resultados obtenidos en esta investigación, los valores son relativamente similares, la eficiencia de encapsulación de fenoles totales en cápsulas de extracto de tumbo serrano varió de 55 % a 90 %; obteniéndose algunos valores mayores por este método de gelificación iónica externa. Además, el autor menciona que la fase dispersa de cocoa manifiesta la importancia de controlar el pH, la temperatura y los tiempos de preparación de las microesferas.

Rezende, Nogueira y Narain (2018) informaron que la eficiencia de encapsulación de fenoles totales de pulpa de acerola fue 69.34 % por el método de spray drying. Saikia, Mahnot y Mahanta (2015) reportaron compuestos fenólicos microencapsulado de carambola por pulverización y liofilización, la eficiencia de microencapsulación fue mucho mayor en las muestras liofilizadas (78-97 %) que en los productos secados por pulverización (63-79 %). En comparación por este método de gelificación iónica externa se obtuvo resultados similares o dentro del rango a lo obtenido por los diversos métodos de microencapsulación mencionados.

En la encapsulación de enzimas por el método de gelificación iónica, encontraron que el resultado óptimo de la eficiencia de encapsulación fue en condiciones de 1 % w/v de alginato de sodio, 5.5 % w/v de cloruro de calcio (fue alto al incremento de concentración de CaCl_2) y un tiempo de gelificación de 1h, obteniendo así un resultado más alto de eficiencia de encapsulación de 95 % (Blandino, Macías y Cantero, 2000).

George y Abraham (2006) mencionaron que el uso de altas concentraciones de cloruro de Calcio puede disminuir el rendimiento de producción, pues al utilizar una cantidad mayor, el remanente de esta sal continúa siendo elevada al final del proceso

de gelificación, provocando que el polímero gelifique rápidamente produciendo microesferas que precipitan formando asociaciones permanentes.

4.4. Determinación de propiedades fisicoquímicas de las cápsulas.

Los resultados promedios de humedad, actividad de agua e higroscopicidad de las cápsulas se observa en la Tabla 20.

La humedad de las cápsulas osciló de 9.86 % \pm 0.148 a 13.08 % \pm 0.048, la actividad de agua de 0.36 \pm 0.002 a 0.54 \pm 0.006 y la higroscopicidad a partir de 20.69 % \pm 0.311 a 32.60 % \pm 0.271.

Las características del contenido de humedad, la actividad de agua (A_w) y la higroscopicidad son importantes para la estabilidad, calidad y el almacenamiento del polvo (Tonon, Brabet y Hubinger, 2008).

Tabla 20. Resultados de las propiedades fisicoquímicas de las cápsulas.

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Humedad (%)	A_w	Higroscopicidad (%)
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	13.08 \pm 0.048	0.54 \pm 0.006	25.63 \pm 0.353
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	10.40 \pm 0.016	0.44 \pm 0.007	25.30 \pm 0.278
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	9.87 \pm 0.148	0.43 \pm 0.005	20.69 \pm 0.311
T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	12.18 \pm 0.035	0.40 \pm 0.001	28.34 \pm 0.650
T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	10.28 \pm 0.028	0.36 \pm 0.006	22.88 \pm 0.416
T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	11.26 \pm 0.203	0.38 \pm 0.001	25.58 \pm 0.357
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	9.86 \pm 0.101	0.36 \pm 0.002	23.23 \pm 0.417
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	10.21 \pm 0.271	0.37 \pm 0.003	24.60 \pm 0.200
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	11.12 \pm 0.148	0.39 \pm 0.002	32.60 \pm 0.271

4.4.1. Humedad

En la Tabla 21 se muestra la ANOVA para la variable humedad de las cápsulas, donde se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) = 0.82865 a 95 % de nivel de confianza y en el anexo 6.1 se muestra la gráfica de Pareto y la tabla de estimación de efectos; Siendo los factores significativos o con efecto el pH (L y Q), CaCl₂ (L y Q) y AlgNa (Q) por presentar el p valor menor a 0.05, indicando la influencia en el porcentaje

de humedad de las cápsulas. Siendo el factor de mayor influencia la concentración de alginato de sodio cuadrática, por presentar mayor valor F (47.65476).

Tabla 21. Resultados de ANOVA y efecto para la humedad de las cápsulas.

FACTOR	SS	Df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	1.71742	1	1.71742	6.26736	0.021077*	-0.61778*
pH (Q)	1.71022	1	1.71022	6.24109	0.021315*	0.53389*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	5.03502	1	5.03502	18.37422	0.000360*	-1.05778*
CaCl ₂ (%) (Q)	4.62296	1	4.62296	16.87050	0.000547*	-0.87778*
(3) AlgNa (%) (L)	0.35983	1	0.35983	1.31314	0.265354	-0.28278
AlgNa (%) (Q)	13.05867	1	13.05867	47.65476	0.000001*	-1.47528*
Error	5.48053	20	0.27403			
Total SS	31.98466	26				
R²	0.82865					
R adj	0.77725					

(*) Significativo p< 0.05 y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) cuadrática

Se generó un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 6.1), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la humedad de las cápsulas:

$$\text{Humedad (\%)} = 53.81777 + 2.4042 (X_1) - 0.2373(X_1)^2 - 6.6733(X_2) + 0.8778(X_2)^2 + 16.3920 (X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 11})$$

dónde: X₁: pH; X₂: CaCl₂; X₃: AlgNa

En la Figura 19 se observa las gráficas de contorno y superficie de respuesta para la humedad de las cápsulas, al incrementar la concentración de cloruro de calcio (4) y al aumentar el pH (7) disminuye la humedad de las cápsulas, siendo los parámetros óptimos 1.5 % de alginato de sodio y 3.5 % cloruro de calcio con menores de 10.5 % de humedad. Las cápsulas del tratamiento siete presentaron el porcentaje de humedad más bajo con 9.86 % ± 0.101, a pH 7, 2.5 % de cloruro de calcio y 1.5 % de alginato de sodio.

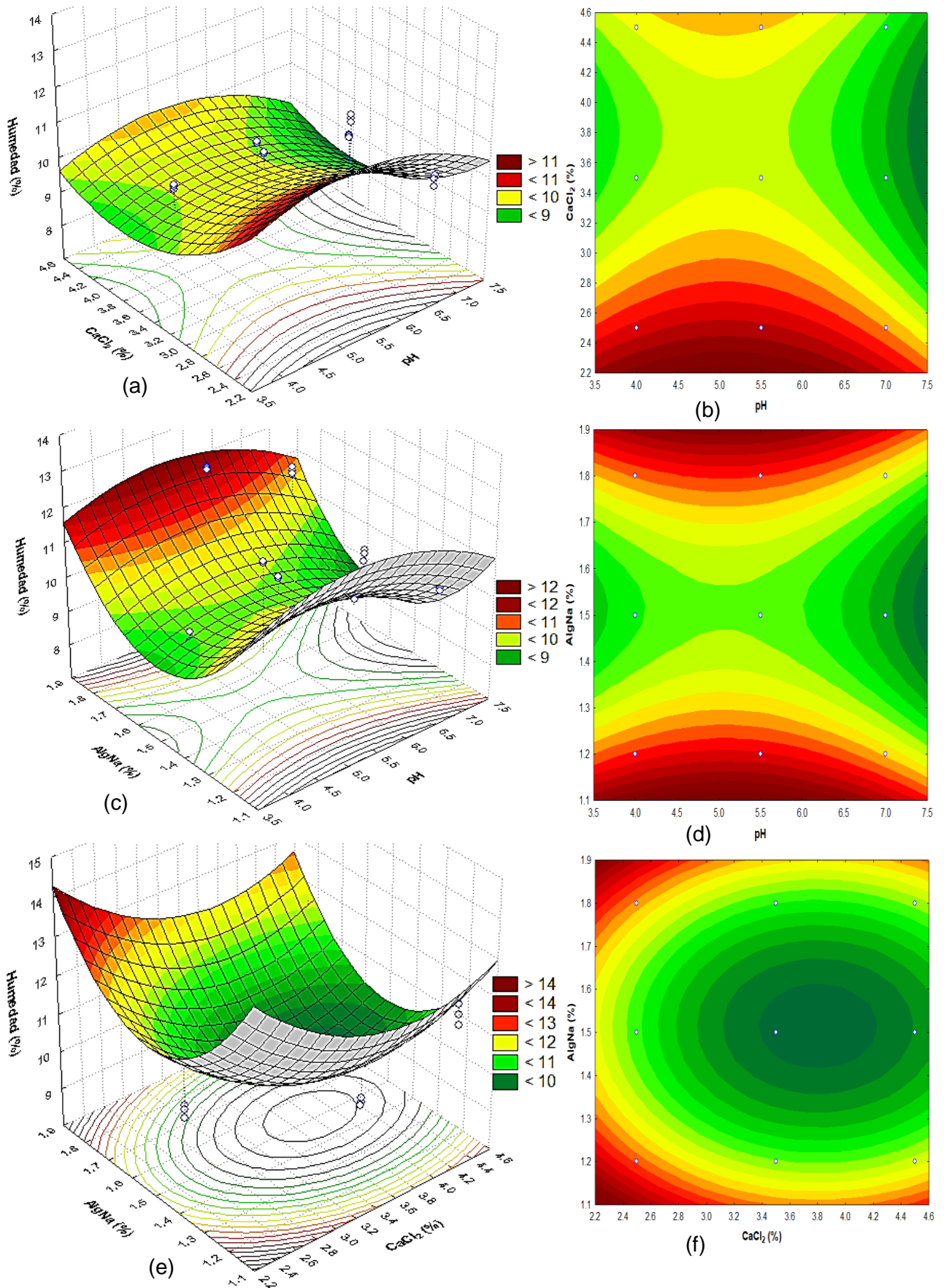


Figura 19. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la humedad (%) en función a CaCl₂ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl₂ (%) (e) y (f).

El contenido de humedad determina diferentes propiedades que influye en las reacciones físicas, químicas, enzimáticas y microbiológicas en las cápsulas y es un parámetro de alta importancia en los productos deshidratados (Picot y Lacroix, 2004).

Por esta metodología las cápsulas de extracto de tumbo perdieron el 87 % a 90 % de humedad, resultados similares reportaron los siguientes autores. Villarroel (2015) corroboró en su investigación de elaboración y evaluación de microesferas mucoadhesivas preparadas a través de la técnica de gelificación iónica utilizando alginato de sódico y quitasano, obteniendo como resultado la pérdida de humedad promedio que experimentaron las microesferas de 90.42, 89.72 y 89.86 %. Además, según otras investigaciones realizadas se conoce que estas formas esféricas farmacéuticas pueden perder una cantidad de agua alrededor de 89, 90 a 95 % (George y Abraham, 2006).

Jiménez (2011) reportó en su investigación de encapsulación de *Lactobacillus paracasei* en una matriz de alginato-almidón a través de: Atomización y coacervación, el contenido de humedad de las cápsulas secas de coacervación obtuvieron 1.8 % y atomización 2.2 %, durante el secado por lecho fluidizado. Rezende et al (2018) registró en microencapsulación de extractos de compuestos bioactivos obtenidos a partir de pulpa y residuo de acerola por pulverización y liofilización, un contenido de humedad que varió de 3.12 % a 7.05 %. Siendo métodos de encapsulación con menor porcentaje de humedad de cápsulas frente a la metodología de gelificación iónica.

Se llega a obtener partículas con menor porcentaje de humedad, cuando se da el uso de temperaturas altas en el secado; lo cual implica una mayor tasa de transferencia de calor a las partículas y conduce a un incremento de la evaporación de agua del producto y al trabajar a altas concentraciones del material encapsulante (Quek, Yuil y Zjuk, 2007).

4.4.2. Actividad de agua (Aw)

Según la Tabla 22 de análisis de varianza, la gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 6.2) los variables independientes que tuvieron un efecto significativo en la actividad de agua de las cápsulas con un $p < 0.05$, fueron pH, concentración de cloruro de calcio y alginato de sodio. Se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) = 0.90498 y siendo el factor de mayor influencia el pH (L) con valor F (108.7134).

Tabla 22. Resultados de ANOVA y efecto para actividad de agua en las cápsulas.

FACTORES	SS	Df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	0.039107	1	0.039107	108.7134	0.000000*	-0.093222*
pH (Q)	0.010894	1	0.010894	30.2851	0.000022*	-0.52611*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	0.004434	1	0.004434	12.3253	0.002200*	-0.031389*
CaCl ₂ (%) (Q)	0.003659	1	0.003659	10.1714	0.004608*	-0.024694*
(3) AlgNa (%) (L)	0.002091	1	0.002091	5.8125	0.025652*	-0.21556*
AlgNa (%) (Q)	0.008338	1	0.008338	23.1784	0.000105*	-0.037278*
Error	0.007194	20	0.000360			
Total SS	0.075717	26				
R²	0.90498					
R adj	0.87648					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se generó un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 6.2), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la actividad de agua:

$$\text{Actividad de agua} = 2.42508 - 0.23940 (X_1) + 0.01894(X_1)^2 - 0.18856(X_2) + 0.02469 (X_2)^2 - 1.27852(X_3) + 0.41420(X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 12})$$

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl₂; X_3 : AlgNa

En la Figura 20 se muestra las gráficas de superficie de respuesta (a, c y e) y curvas de contorno (b, d y f). Aquellos, muestran factores óptimos para la actividad de agua a pH de 6.3, 3.8 % de cloruro de calcio y 1.5 % de alginato de sodio con 0.36 o menores.

La actividad de agua según los estudios es un parámetro que está relacionado con los cambios deteriorativos de los alimentos, encontrándose que mientras más alto sea su valor y se encuentre más cercano a 1, mayor será su inestabilidad y mientras sean más bajos favorecen la estabilidad de las cápsulas al presentar menos agua disponible y así prolongar su vida útil (Tonon, Brabet, Pallet, Brat y Hubinger, 2009).

En la Tabla 20 se observa que con esta metodología de encapsulación se obtuvieron valores bajos de actividad de agua, siendo el tratamiento 7 (pH 7, CaCl₂ 2.5 % y AlgNa 1.5 %) con menor valor de 0.36 ± 0.002 , Valores más bajos registró Ortiz (2016) en su investigación de encapsulación de *Lactobacillus plantarum* por el método de gelificación con alginato de calcio, una actividad de agua de 0.063 ± 0.001 para las cápsulas elaborado por goteo. Siendo la diferencia el uso del método de secado por liofilización de la cápsula de *Lactobacillus* por 48 horas.

Jiménez (2011) en su trabajo de encapsulación de *Lactobacillus paracasei* reportó que las cápsulas por el método de coacervación y aspersion por pistola presentaron una Aw de 0.76, siendo valores mayores a los obtenidos por Picot y Lacroix (2004) registraron Aw de cápsulas que variaron de 0.143 a 0.176.

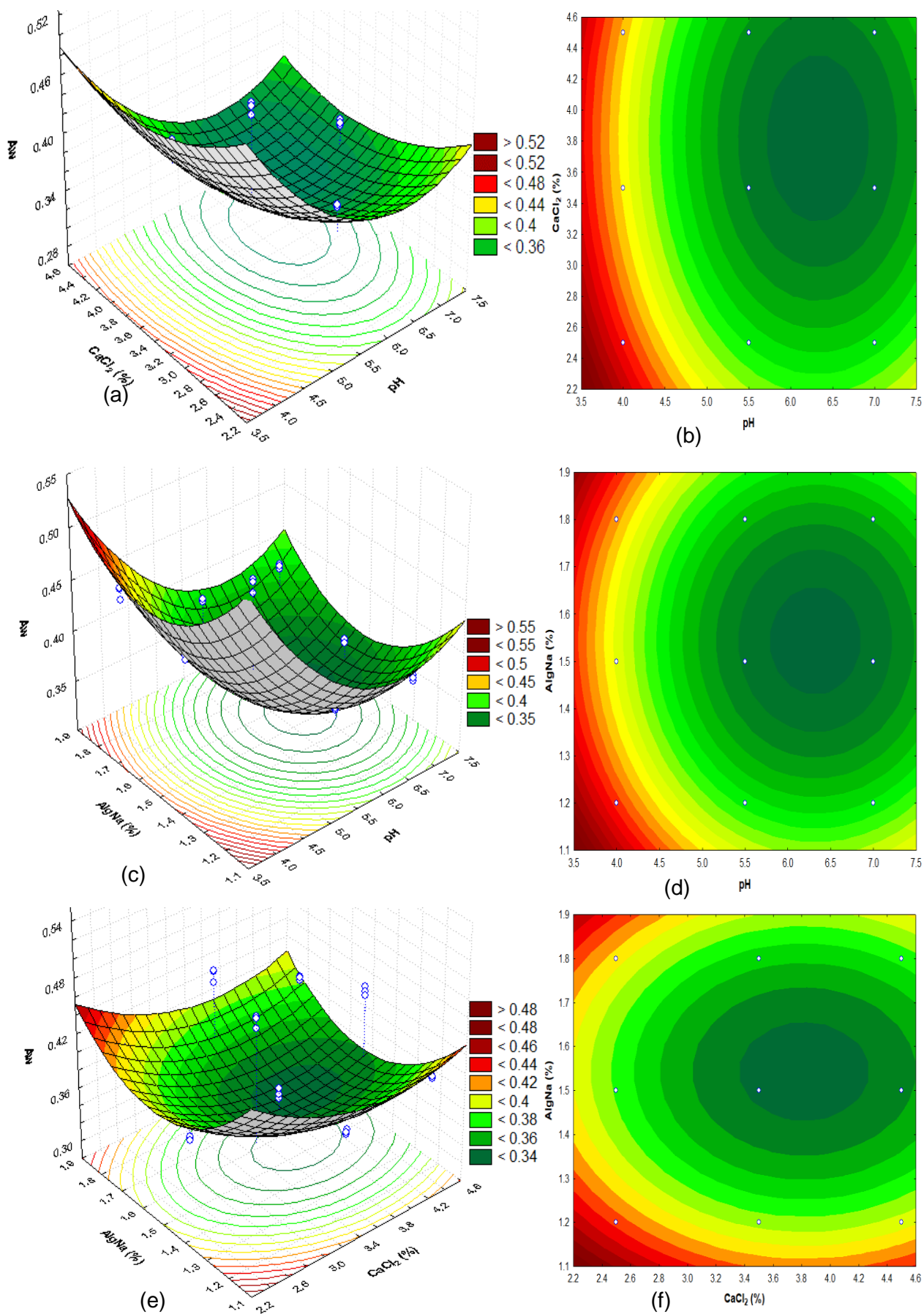


Figura 20. Superficie de respuesta y curvas de contorno para A_w en función a $CaCl_2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl_2$ (%) (e) y (f).

4.4.3. Higroscopicidad de las cápsulas

Según la Tabla 23, gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 6.3) los factores con un efecto significativo en la higroscopicidad de las cápsulas fueron el pH (L), CaCl₂ (Q) y AlgNa (L y Q) al presentar el valor $p < 0.05$ (Tabla 23), con un coeficiente de determinación (R^2) =0.86932. Factor con mayor influencia la concentración de alginato de sodio ($F= 72.27059$).

Tabla 23. Resultados de ANOVA y efecto para la higroscopicidad de las cápsulas.

Factor	SS	Df	MS	F	p	Efecto
(1) pH (L)	38.7590	1	38.7590	20.7936	0.000190*	2.93481*
pH (Q)	0.4041	1	0.4041	0.21683	0.646500	0.255953
(2) CaCl ₂ (%) (L)	1.4090	1	1.4090	0.75599	0.394901	0.55957
CaCl ₂ (%) (Q)	18.3224	1	18.3224	9.83051	0.005209*	-1.74749*
(3) AlgNa (%) (L)	54.3767	1	54.3767	29.17471	0.000028*	3.47616*
AlgNa (%) (Q)	134.7002	1	134.7002	72.27059	0.000000*	-4.73815*
Error	37.2766	20	1.8638			
Total SS	285.2482	26				
R²	0.86932					
R adj	0.83011					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se generó un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 6.3), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la higroscopicidad:

$$\text{Higroscopicidad (\%)} = 142.598 + 2.247(X_1) - 11.953(X_2) + 1.747(X_2)^2 - 152.145(X_3) + 52.646(X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 13})$$

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl₂; X_3 : AlgNa

En la Figura 21 las gráficas (a, b, c y d) muestran, que a menor pH será menor el porcentaje de higroscopicidad de las cápsulas y las gráficas (e y f) indican factores óptimos, siendo 3.4 % de cloruro de calcio y 1.3 % de alginato de sodio con 22 % o menores.

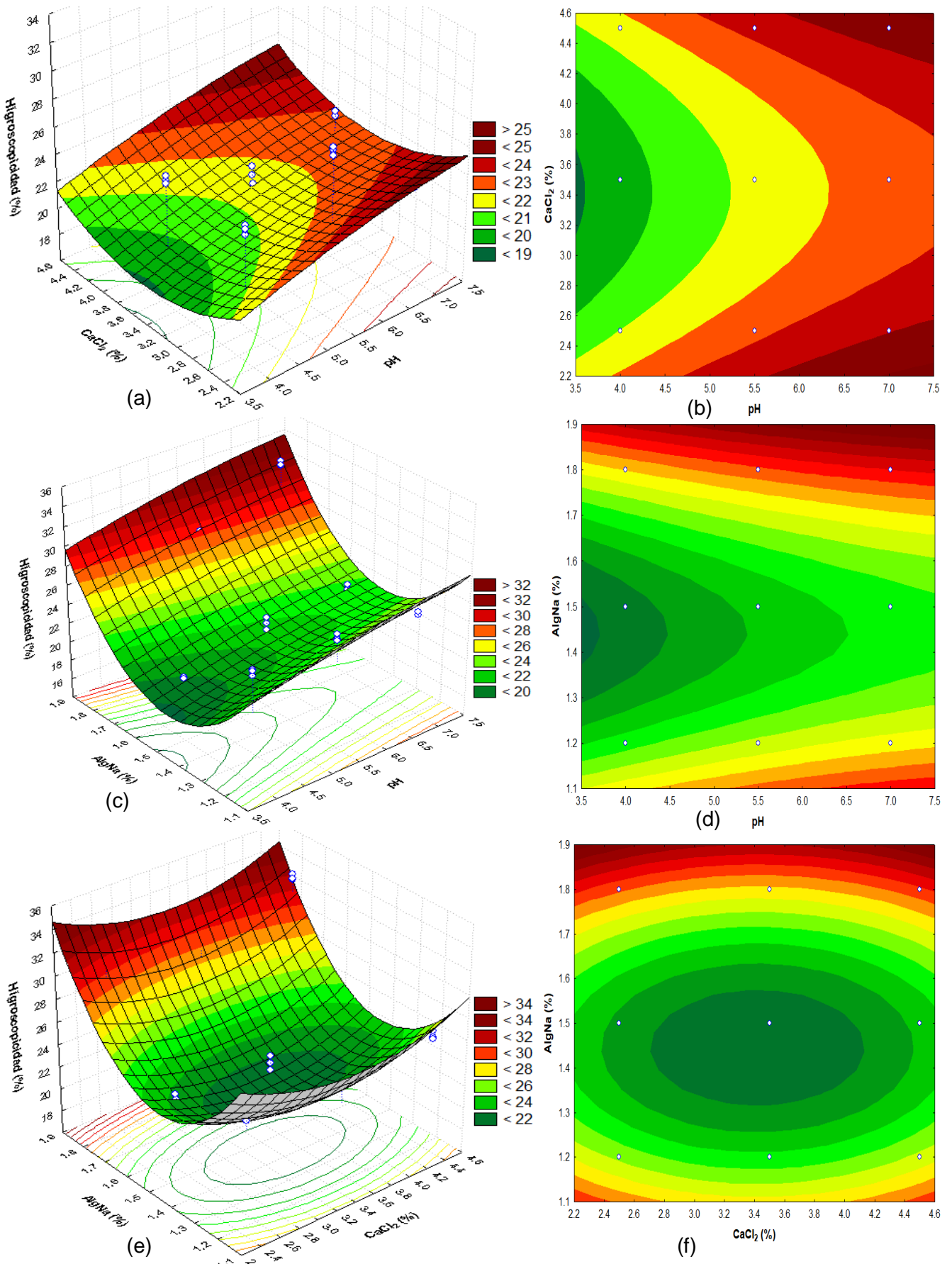


Figura 21. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la higroscopicidad (%) en función a CaCl² (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl² (%) (e) y (f).

La higroscopicidad de un alimento es un término que describe cuán fácilmente un material puede absorber humedad cuando se somete a un cambio dado en la humedad relativa; un material altamente higroscópico va a mostrar una absorción de agua mucho mayor que materiales con baja higroscopicidad (Figura y Teixeira, 2007).

En esta investigación se observó que las cápsulas pueden presentar cambios en su higroscopicidad debido a cambios en su estructura; las cápsulas con mayor higroscopicidad fueron los tratamientos a pH 5.5 y 7 probablemente por presentar una estructura más porosa.

Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los valores reportados por Ortiz (2016) en su investigación de encapsulación de *Lactobacillus plantarum* por el método de gelificación con alginato de calcio, con un promedio de higroscopicidad de $27.06 \% \pm 0.20$ (g de agua/100g de ss.) para las cápsulas elaborados por goteo.

4.4.4. Capacidad de solubilidad de las cápsulas

En la Tabla 24 se muestra los valores de la solubilidad de las cápsulas. Se observa que las cápsulas con 2.5 % de CaCl₂, 1.5 % de AS y pH 7 mostraron valores significativamente mayores ($37.27 \% \pm 0.453$). El factor pH fue el más influyente frente a la solubilidad, pH más cercano a neutro mayor solubilidad.

Tabla 24. Resultados de la solubilidad de las cápsulas

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Solubilidad (%)
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	10.75 ± 1.208
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	31.58 ± 1.655
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	18.68 ± 1.513
T4	5.5 (0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	12.80 ± 1.112
T5	5.5 (0)	3.5 (0)	1.5 (0)	32.86 ± 0.489
T6	5.5 (0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	25.58 ± 1.689
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	37.27 ± 0.453
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	30.71 ± 0.589
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	27.69 ± 1.489

Según ANOVA (Tabla 25), gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 8.3) los factores con efecto significativo en la solubilidad de las cápsulas fueron el pH (L), concentración de cloruro de calcio (Q) y Alginato de sodio (Q). Con un coeficiente de determinación (R^2) = 0.72245, los factores de mayor influencia en la solubilidad son: pH (L) (F= 20.7411).

Tabla 25. Resultados de ANOVA y efecto de la solubilidad de las cápsulas.

FACTOR	SS	Df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	600.624	1	600.624	20.7411	0.000193*	11.32486*
pH (Q)	33.554	1	33.554	1.15870	0.294549	-2.36480
(2) CaCl ₂ (%) (L)	61.922	1	61.922	2.13832	0.159196	3.70950
CaCl ₂ (%) (Q)	551.650	1	551.650	19.04991	0.000300*	9.58862*
(3) AlgNa (%) (L)	12.659	1	12.659	0.43714	0.516053	1.67721
AlgNa (%) (Q)	247.147	1	247.147	8.53461	0.008441*	6.41803*
Error	579.163	20	28.9582			
Total SS	2086.719	26				
R²	0.72245					
R adj	0.63919					

(*) Significativo P < 0.05 y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se generó un modelo un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 8.3), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la solubilidad:

$$\text{Solubilidad (\%)} = -243.564 - 7.710(X_1) - 9.589(X_2)^2 - 71.311(X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 14})$$

dónde: X₁: pH; X₂: CaCl₂; X₃: AlgNa

En la Figura 22 las gráficas (a, b, c y d) muestran, que al incremento del pH será mayor la solubilidad de las cápsulas y las gráficas (e y f) indican factores óptimos, siendo 3.6 % de cloruro de calcio y 1.5 % de alginato de sodio con 30 % o mayores de solubilidad.

El alginato, en forma sódica es soluble en soluciones acuosas pH mayores de 3.5. Las sales de cationes monovalentes (Na⁺, NH₄⁺, (CH₂OH)₃ NH⁺) del ácido algínico

y su éster de propilenglicol son solubles en agua. Por lo contrario, el ácido algínico y sus sales con cationes polivalentes como el calcio son insolubles en agua; es probable que por aquello las cápsulas de extracto de tumbo registraron una baja solubilidad (González, 2009).

La mayor solubilidad puede estar relacionada con la alta solubilidad de los agentes de encapsulación utilizados y también con el tamaño de partícula obtenido en los productos; cuanto menor sea el tamaño de partícula, mayor será el área de superficie disponible para la hidratación (Rezende et al, 2018).

La mayor porosidad da lugar a una mayor superficie específica de la cápsula, lo que resulta en un área de contacto más grande entre la capsula y el agua, resultados observados en microencapsulación de jugo de naranja por atomización (Cahuaya, 2017). Aquello justifica los resultados obtenidos, que a mayor irregularidad y porosidad de las cápsulas la solubilidad fue alta (tratamientos a pH 5.5 y 7).

Otro de los factores de influencia en la solubilidad de las cápsulas puede ser la presencia y la fracción de volumen de la fase dispersa dentro de una partícula de gel, que puede resultar cambios dramáticos en la resistencia del gel. Los rellenos activos pueden mejorar o repulsar la microestructura del gel, al interactuar fuertemente con la matriz del gel (Chen y Dickinson, 1999). La interacción con la matriz de gel conduce a una disminución en la resistencia del gel (Vliet, 1988). Las partículas de relleno comúnmente estudiadas son gotas de emulsión (Lorenzo, Zaritzky y Califano, 2013). En este caso el relleno de las cápsulas fue extracto de tumbo serrano y es probable que algunos de sus componentes como azúcares, proteína, calcio entre otros haya influido en este proceso de encapsulación.

Cuando se forman geles de alginato, las moléculas de agua que se unen a la estructura interna del gel mediante enlaces de hidrógeno quedan atrapadas dentro de la matriz del gel (Draget, Gaserod, Aune, Andersen, Storbakken, Stokke y Smidsrod, 2000), lo cual facilita su dilución en el agua.

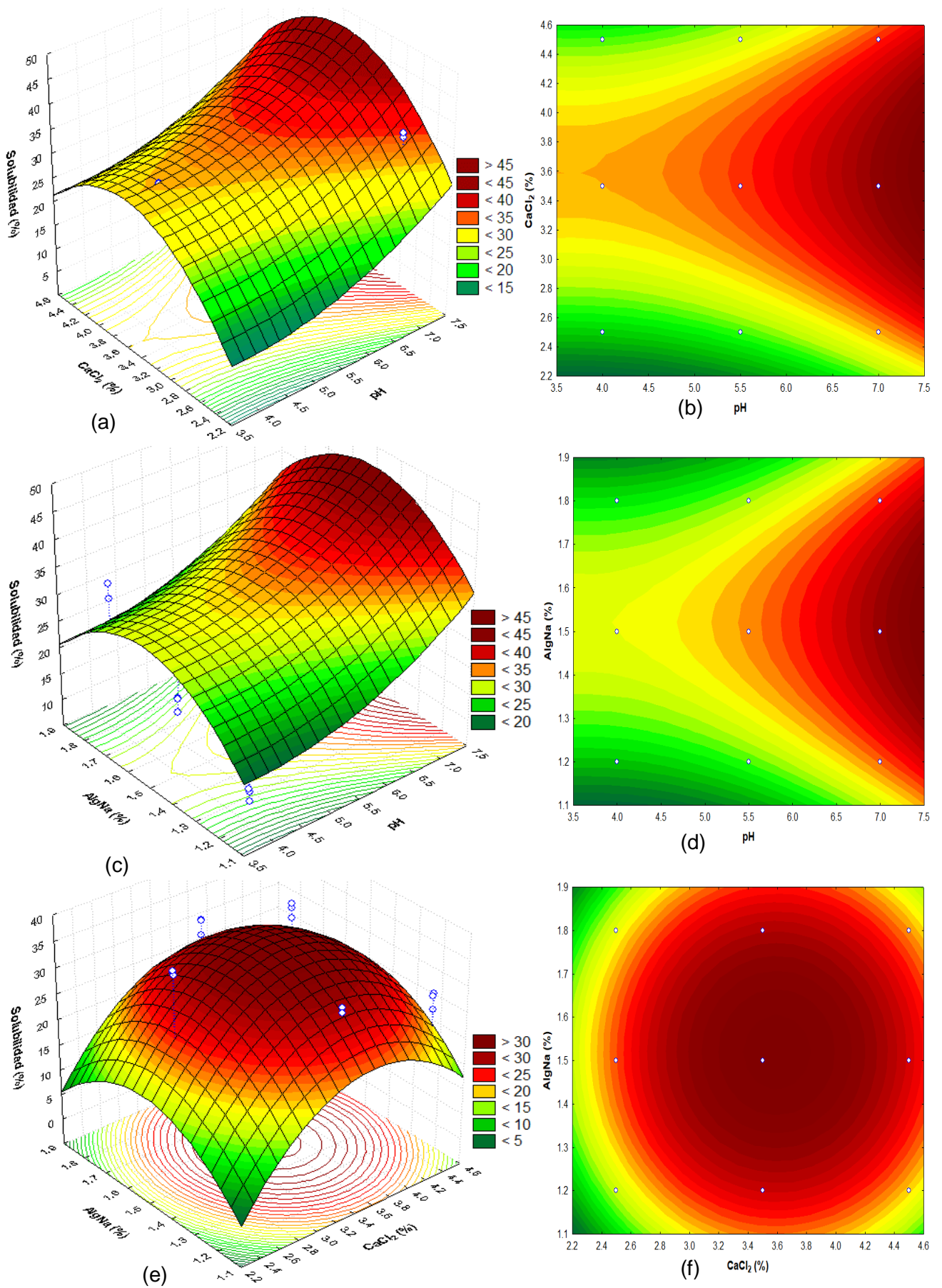


Figura 22. Superficie de respuesta y curvas de contorno para la solubilidad (%) en función a CaCl₂ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl₂ (%) (e) y (f).

Los geles con alto contenido de G son quebradizos y un gel alto en M será más elástico. La resistencia del gel también depende del grado de interacción del alginato con el catión divalente, que depende del radio iónico. Los iones Ca, que se unen a los bloques G y MG, y que tienen menos afinidad con el alginato (Chapman, 1980). La liberación del contenido de las cápsulas se puede llevar a cabo por disolución en agua, esfuerzos de cizalla, temperatura, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica. La permeabilidad a través de la matriz y la solubilidad de los componentes de la pared de la cápsula influyen en la velocidad de difusión (Martín et al., 2009).

4.5. Propiedades de flujo de las cápsulas

En la Tabla 26 se muestra los resultados promedios de la densidad aparente y compacta de las cápsulas. Son parámetros físicos que proporcionan información sobre el comportamiento de los materiales. La densidad de partícula da una idea de la porosidad de los materiales sólidos, en este caso, muestra como el secado va formando grietas o poros debido a la deshidratación durante el secado. Las características físicas de las cápsulas que afectan las propiedades de flujo de las cápsulas son como el tamaño, forma y porosidad (Ortiz, 2016).

Tabla 26. Resultados de las propiedades de flujo de las cápsulas.

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Densidad aparente (g/cm ³)	Densidad compacta (g/cm ³)
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	0.738 ± 0.007	0.784 ± 0.008
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	0.563 ± 0.015	0.724 ± 0.007
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	0.527 ± 0.003	0.626 ± 0.002
T4	5.5 (0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	0.460 ± 0.016	0.505 ± 0.020
T5	5.5 (0)	3.5 (0)	1.5 (0)	0.322 ± 0.001	0.344 ± 0.001
T6	5.5 (0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	0.342 ± 0.007	0.396 ± 0.009
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	0.250 ± 0.005	0.299 ± 0.009
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	0.278 ± 0.004	0.294 ± 0.004
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	0.359 ± 0.023	0.386 ± 0.027

Los resultados de densidad aparente de las cápsulas variaron entre $0.250 \text{ g/cm}^3 \pm 0.005$ a $0.738 \text{ g/cm}^3 \pm 0.007$ y la densidad compacta entre $0.299 \text{ g/cm}^3 \pm 0.004$ a $0.784 \text{ g/cm}^3 \pm 0.008$. Siendo con mayor valor en ambas propiedades el tratamiento 1 a pH 4, con 2.5 % de cloruro de calcio y 1.2 % de alginato de sodio.

4.5.1. Densidad aparente

La densidad aparente es la relación entre la masa y el volumen de un material cuando es vertido en un contenedor (Jiménez y Beristain, 2011).

En la Tabla 27, gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 8.1) se observa los factores con efecto significativo para la densidad aparente, siendo el pH (L y Q), CaCl_2 (L y Q) y AlgNa (Q). Con un coeficiente de determinación (R^2) = 0.93882 a 95 % de nivel de confianza. Principalmente de mayor influencia el factor pH (L) ($F=237.1687$).

Tabla 27. Resultados de ANOVA y efecto para la densidad aparente de las cápsulas.

Factor	SS	df	MS	F	P	Efecto
(1)pH (L)	0.442046	1	0.442046	237.1687	0.000000*	-0.313421*
pH (Q)	0.036557	1	0.036557	19.6136	0.000258*	-0.078056*
(2) CaCl_2 (%) (L)	0.024203	1	0.024203	12.9856	0.001774*	-0.073338*
CaCl_2 (%) (Q)	0.020205	1	0.020205	10.8405	0.003639*	-0.058030*
(3)AlgNa (%) (L)	0.000288	1	0.000288	0.1544	0.698477	0.007998
(3)AlgNa (%) (Q)	0.048693	1	0.048693	26.1252	0.000053*	-0.090086*
Error	0.037277	20	0.001864			
Total SS	0.609269	26				
R²	0.93882					
R adj	0.92046					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se generó un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 8.1), que demuestra el comportamiento de las variables sobre la densidad aparente:

$$\text{Densidad aparente (g/cm}^3\text{)} = 4.97120 - 0.48608(X_1) + 0.03469(X_1)^2 - 0.44288(X_2) + 0.05803(X_2)^2 + 1.00096(X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 15})$$

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl₂; X_3 : AlgNa

En la figura 23 las gráficas muestran los efectos de los factores sobre la densidad aparente de las cápsulas, donde: (a), (c) y (e) indican que, a menores concentraciones de cloruro de calcio, al incremento de la concentración de alginato de sodio y a menor pH la densidad aparente es mayor.

La densidad aparente debe estar en torno a 0.600 - 0.800 g/ cm³, el descenso de esta da idea de una partícula muy grande y esponjosa. En los resultados obtenidos se observó esta situación, con el aumento de pH incrementó el tamaño de las cápsulas y la densidad aparente bajó (Miravet, 2009).

La densidad aparente será mayor en las cápsulas con mayor contenido de humedad o mientras más pesado sea el material, ya que un material pesado se acomodará más fácil en espacios entre las partículas, ocupando así menos espacio (Tonon, Brabet, y Hubinger, 2010). Por ende, en las cápsulas a pH 4 la densidad aparente fue mayor por el mayor contenido de humedad.

Ortiz (2016) en la encapsulación de *L. plantarium* los valores obtenidos para la densidad aparente presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.001$) siendo de 0.194 ± 0.002 para las cápsulas obtenidas por goteo y de 0.124 ± 0.001 para las atomizadas, valores inferiores a los resultados obtenidos. La densidad aparente de granada microencapsulado registró entre 0.50 y 0.60 g/cm³, observándose que la densidad aparente aumenta ligeramente al aumentar la proporción de agente encapsulante utilizado (Miravet, 2009). Una baja densidad aparente indica más aire entre partículas, y la necesidad de un mayor volumen de empaque (Lewis, 1987).

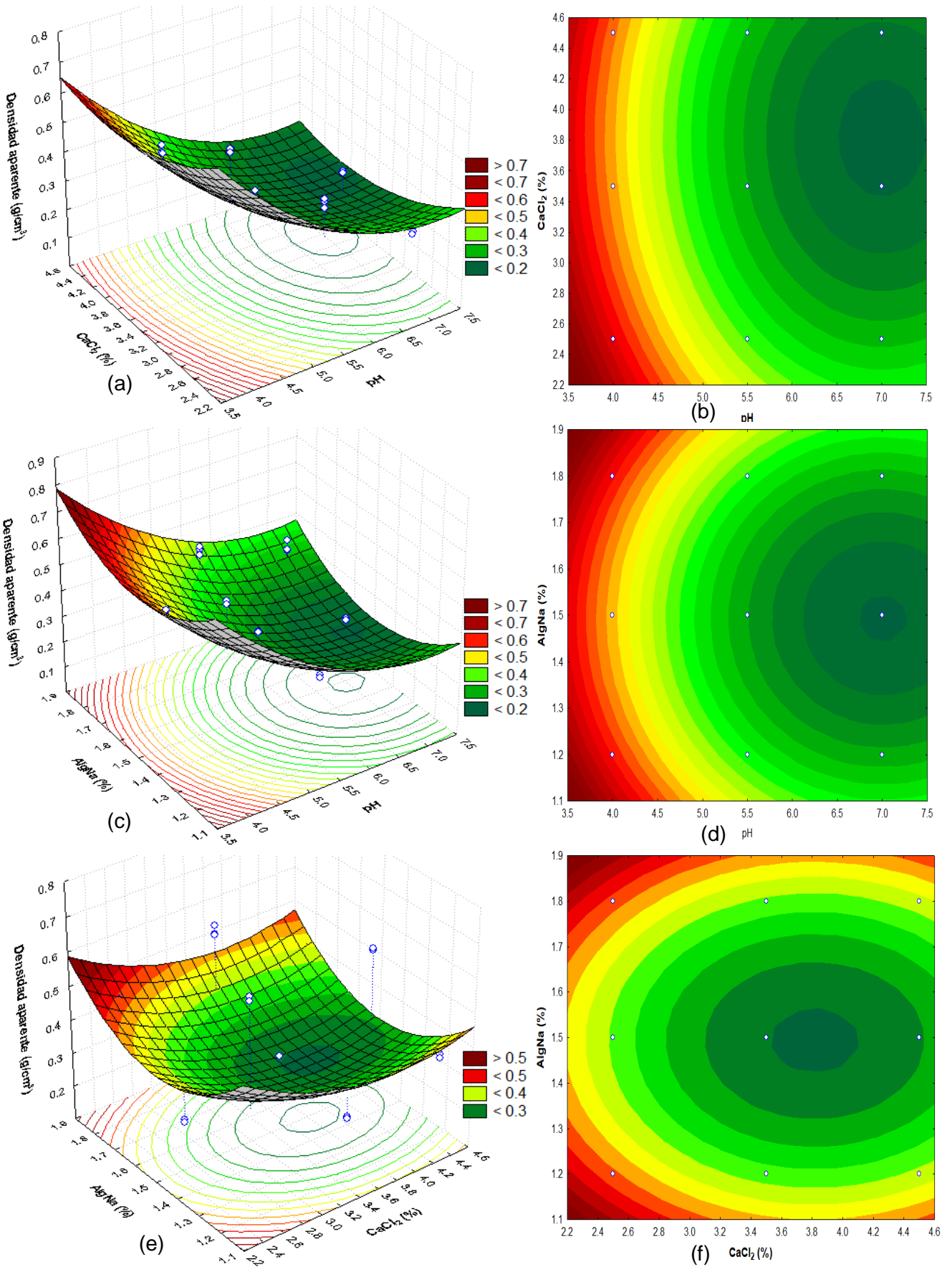


Figura 23. Superficie de respuesta y curvas de contorno para densidad aparente(g/cm³) en función a CaCl² (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl² (%) (e) y (f).

4.5.2. Densidad compacta

La densidad compacta es la relación de masa entre el volumen medida después de que el contenedor ha sido agitado y el material se ha consolidado (Jiménez, 2011). En la Tabla 28, gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 8.2), con coeficiente de determinación (R^2) de 0.98989 a 95 % de nivel de confianza indican que todos los factores son significativos. Factor de mayor efecto el pH (L) ($F = 1590.333$).

Tabla 28. Resultados de ANOVA y efecto para la densidad compacta.

Factor	SS	df	MS	F	P	Efecto
(1) pH (L)	0.665926	1	0.665926	1590.333	0.000000*	-0.384686*
pH (Q)	0.064486	1	0.064486	154.003	0.000000*	-0.103671*
(2) CaCl ₂ (%)(L)	0.016302	1	0.016302	38.933	0.000004*	-0.060189*
CaCl ₂ (%) (Q)	0.012192	1	0.012192	29.115	0.000028*	-0.045077*
(3) AlgNa (%) (L)	0.009991	1	0.009991	23.861	0.000090*	0.047120*
AlgNa (%) (Q)	0.050921	1	0.050921	121.607	0.000000*	-0.092124*
Error	0.008375	20	0.000419			
Total SS	0.828193	26				
R²	0.98989					
R adj	0.98685					

(*) Significativo $p < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se obtuvo un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 8.2), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la densidad compacta:

$$\text{Densidad compacta (g/cm}^3\text{)} = 5.26557 - 0.63507(X_1) + 0.04608(X_1)^2 - 0.34563(X_2) + 0.04508(X_2)^2 - 2.99226(X_3) + 1.02360(X_3)^2 \quad (\text{Ecuación 16})$$

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl₂; X_3 : AlgNa

En las siguientes gráficas de superficie y contorno de la Figura 24 se observa que la densidad compacta de las cápsulas es mayor a menor concentración de cloruro de calcio, mayor concentración de alginato de sodio y a menor pH.

Vargas, Zaragoza, Muñoz, Sánchez, Tijerina, López, et al (2008) reportaron que a medida se incrementa el tamaño de partículas, se reduce la densidad compacta. Observó datos similares reportados en esta investigación, ya que durante el incremento del pH los tamaños de las cápsulas incrementaron y la densidad compacta fueron descendiendo. En forma general la densidad se incrementa con la disminución del tamaño de las partículas (Fernando, Borges, Botrel, y Oliveira, 2014). Mayor densidad compacta de las cápsulas se obtuvo en el tratamiento uno con menor diámetro de cápsulas ($0.784 \pm 0.008 \text{ g/cm}^3$).

López (2012) registró los valores para la densidad compactada de 0.209 ± 0.001 para las cápsulas obtenidas por goteo y de 0.166 ± 0.002 para las atomizadas, debido a que se considera que una mayor diferencia entre la densidad aparente y la densidad compacta indica materiales que tienden a fracturarse. Frente a estos datos obtenidos por encapsulación por goteo, nuestros valores de densidad aparente de las cápsulas fueron mayores.

En la microencapsulación de aceite de canela mediante secado por atomización los autores confirmaron este hecho, observaron que los polvos de Maltodextrina-Inulina presentaron los valores más pequeños de tamaño de partícula y por lo tanto altas densidades. Reportan que la densidad compacta, fue mayor en los polvos de Maltodextrina-Inulina, e incrementó de forma no significativa ($p > 0.05$) al incrementar la cantidad de fase oleosa (Gómez, López, Palou y Jiménez, 2017).

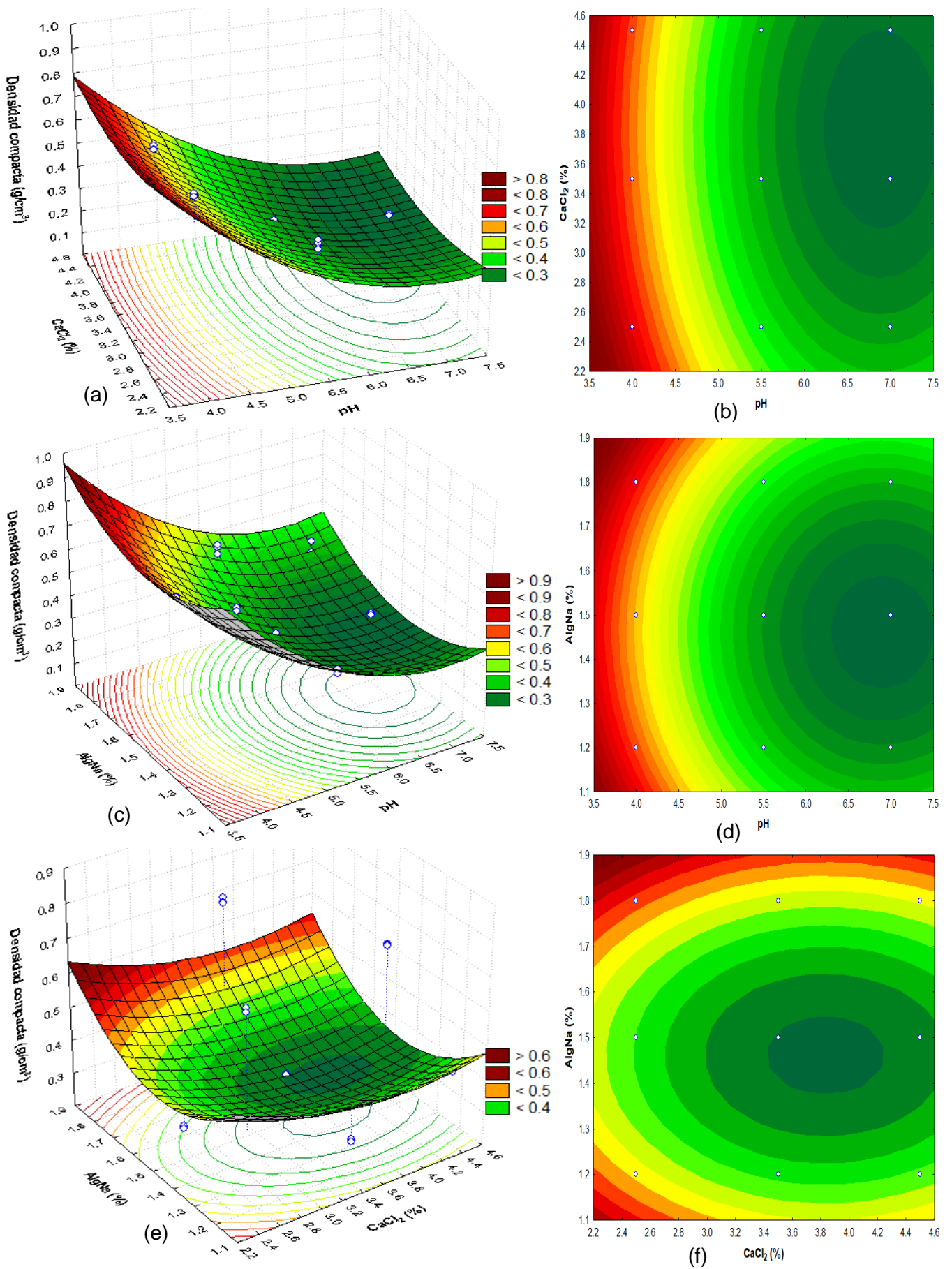


Figura 24. Superficie de respuesta y curvas de contorno para densidad compacta (g/cm³) en función a CaCl² (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl₂ (%) (e) y (f).

4.6. Análisis de los parámetros de color en las cápsulas

En la Tabla 29 se presentan los valores de los parámetros de color de las cápsulas. Se observa que la luminosidad ($L^* = 0$ -oscuro a 100-blanco) de las cápsulas más cercanas a la luminosidad del extracto de tumbo fresco son en los tratamientos 1, 2 y 3 a pH 4 (32.02 ± 0.022) y en tratamiento uno valores significativamente mayores para el parámetro a^* (57.64 ± 0.349) a 2.5 % de CaCl_2 , 1.2 % de AlgNa y pH 4, siendo mayores al valor de extracto fresco (22.31 ± 0.250). Mientras que el tratamiento dos con proporción de 3.5% de CaCl_2 , 1.8 % de AlgNa (AS) y pH 4 mostró mayor valor en el parámetro b^* (73.57 ± 0.486), superando el valor del extracto fresco (45.38 ± 0.042). Lo que se traduce en aquellas cápsulas con una menor concentración de AS mostraron una tonalidad naranja puro y que al incremento de AS y pH generó un cambio en la coloración de las cápsulas desde naranja puro a diferentes tonos de naranja de oscuros a claras.

Tabla 29. Valores de los parámetros de color de las cápsulas.

Tratamientos	L^*	a^*	b^*
Extracto fresco	41.58 ± 0.330	22.31 ± 0.254	45.38 ± 0.042
T1	32.02 ± 0.022	57.64 ± 0.349	71.24 ± 0.449
T2	41.77 ± 0.370	41.09 ± 0.391	73.57 ± 0.486
T3	34.00 ± 0.483	56.69 ± 0.379	67.07 ± 0.266
T4	61.20 ± 0.299	18.54 ± 0.387	32.42 ± 0.170
T5	65.81 ± 0.203	16.33 ± 0.141	26.56 ± 0.130
T6	55.19 ± 0.415	24.28 ± 0.394	36.80 ± 0.304
T7	62.61 ± 0.299	6.32 ± 0.257	11.44 ± 0.165
T8	67.98 ± 0.337	4.22 ± 0.033	9.14 ± 0.304
T9	56.61 ± 0.356	7.28 ± 0.214	13.63 ± 0.212

La evaluación del color es un criterio muy variable que depende de distintos factores, lo cual es muy importante el uso de un instrumento que permita obtener mediciones objetivas y estandarizadas, así como el colorímetro que mide la luz refleja por el alimento por medio de un fotodetector, codificando esta señal en término de algún sistema de medición (Chacon, 2009).

4.6.1. Parámetro L* (Luminosidad)

Según la Tabla 30, gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 7.1) los variables independientes que tuvieron un efecto significativo en L* (Luminosidad) de las cápsulas con un $p < 0.05$, fueron pH y concentración de cloruro de calcio con un coeficiente de determinación (R^2) = 0.98361 y siendo el factor de mayor influencia el pH (L) con valor F (843.3169).

Tabla 30. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro L*

Factor	SS	df	MS	F	P	Efecto
(1)pH (L)	3074.456	1	3074.456	843.3169	0.000000*	26.13833*
pH (Q)	780.102	1	780.102	213.9804	0.000000*	11.40250*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	50.234	1	50.234	13.7790	0.001378*	-3.34111*
CaCl ₂ (%) (Q)	441.870	1	441.870	121.2040	0.000000*	8.58167*
(3) AlgNa (%) (L)	14.436	1	14.436	3.9599	0.060445	1.79111
AlgNa (%) (Q)	13.650	1	13.650	3.8521	0.067258	1.50833
Error	72.913	20	3.646			
Total SS	4447.662	26				
R²	0.98361					
R adj	0.97869					

(*) Significativo a $P < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se obtuvo un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 7.1), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la L*:

$$\text{Luminosidad (L}^*) = -275.226 + 64.458(X_1) - 5.068(X_1)^2 + 58.401(X_2) - 8.582(X_2)^2$$

(Ecuación 17)

dónde: X_1 : pH; X_2 : CaCl_2

En la Figura 25 se observan las gráficas de superficie de respuesta (a, c y e) y contorno (b, d y f) para la luminosidad (L^*) de las cápsulas, siendo mayor (>70) o más claro con parámetros óptimos a pH 6.5, concentración de cloruro de calcio 3.4 % y concentración de alginato de sodio 1.6 %. Las gráficas a y c que se presenta indican que los valores más bajos de L^* se encuentran a un pH menor (4) y menor concentración de alginato de sodio (1.2 %).

El hidróxido de sodio con el cual se ajustó el pH del extracto de tumbo es un compuesto de color blanco que tiende a aumentar los valores de L^* en las cápsulas. Caso similar reportaron Jacho y Vásquez (2011), la adición de hidróxido de calcio en el jugo de sábila y naranja tuvo una relación directa sobre el aumento de la luminosidad del jugo y Andrade, Blanquicett y Rangel (2016) indicaron que a medida que el pH aumentó con hidróxido de calcio (3.8 a 4.5), la luminosidad de los cocristales de zumo de naranja agria aumentó.

El color del alimento es un atributo importante porque indica calidad para los consumidores, por ende, es muy importante la comparación con la muestra natural. Además, menciona que la adición de aditivos causa un aumento como el valor del parámetro L^* (Marqués, 2009). En este trabajo se observó que a medida se aumentó la concentración de alginato de sodio aumentó los valores de L^* de las cápsulas, corroborando con Murga (2014) reportó que al aumentar Maltodextrina los valores de L^* fueron altos en pulpa de Guayaba secado por atomización.

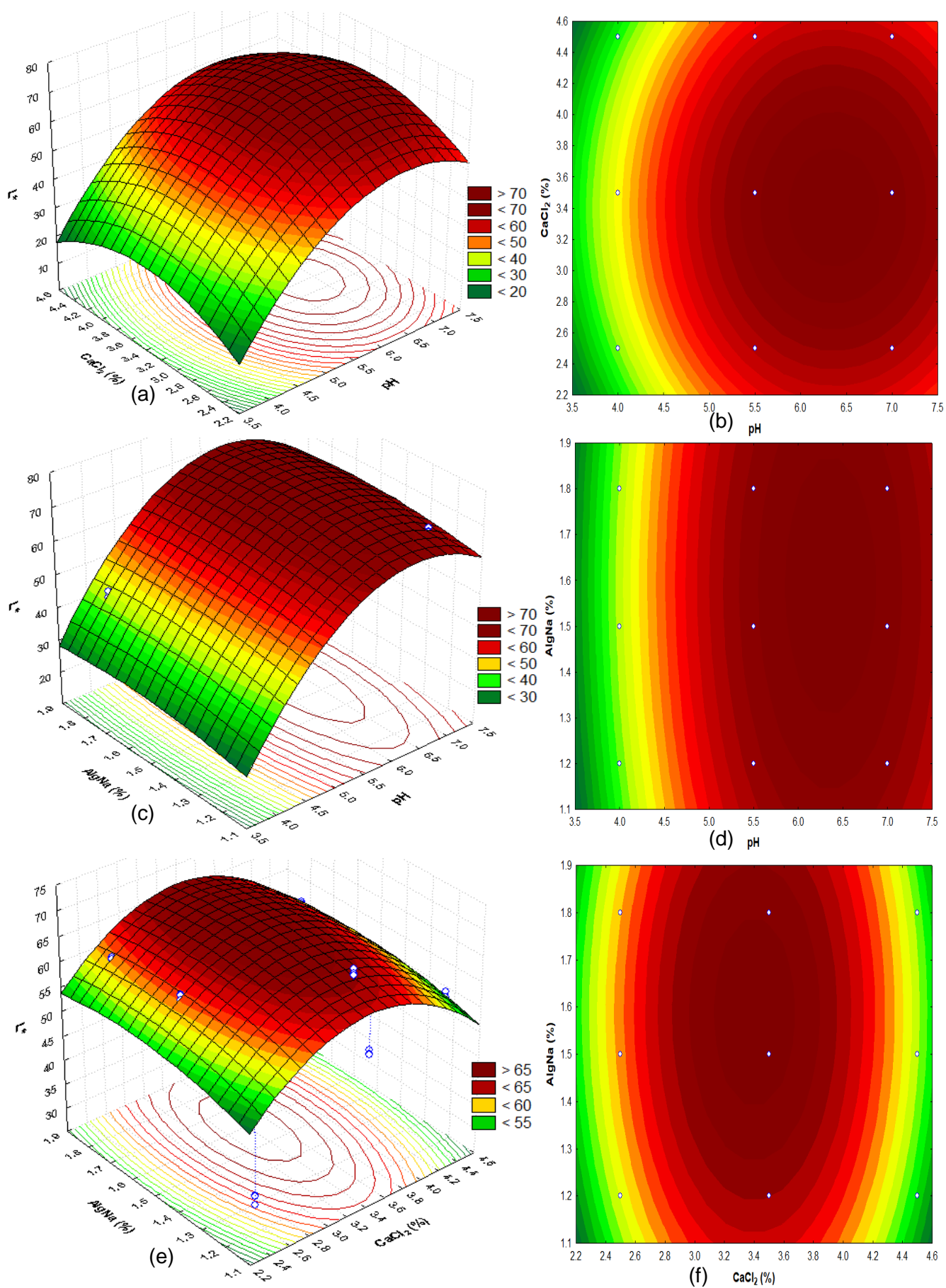


Figura 25. Superficie de respuesta y curvas de contorno para L^* en función a $CaCl_2$ (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y $CaCl_2$ (%) (e) y (f).

4.6.2. Parámetro a*

Según la ANOVA (Tabla 31), gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 7.2) la coordenada a* se vio influenciada significativamente ($p < 0.05$) con los factores: pH (L y Q), concentración de cloruro de calcio (Q) y concentración de alginato de sodio (L). Se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) = 0.98091 y siendo el factor de mayor influencia el pH con valor F (921.8121).

Tabla 31. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro a*

Factor	SS	Df	MS	F	p	Efecto
(1) pH (L)	9466.16	1	9466.16	921.8121	0.000000*	-45.8650*
pH (Q)	502.91	1	502.91	48.9735	0.000001*	-9.1553*
(2) CaCl ₂ (%) (L)	16.53	1	16.53	1.6098	0.219088	1.91553
CaCl ₂ (%) (Q)	375.20	1	375.20	36.5364	0.000007*	-7.9078*
(3) AlgNa (%) (L)	184.70	1	184.70	17.9864	0.000400*	-6.4067*
(3) AlgNa (%) (Q)	5.27	1	5.27	0.5132	0.482031	0.9372
Error	205.38	20	10.269			
Total SS	10756.19					
R²	0.98091	26				
R adj	0.97518					

(*) Significativo a $P < 0.05$ y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se obtuvo un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 7.2), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la a*:

$$a^* = 308.36 - 60.0475(X_1) + 4.0690(X_1)^2 + 7.9078(X_2)^2 + 20.5630(X_3)$$

(Ecuación 18)

dónde: X₁: pH; X₂: CaCl₂; X₃: AlgNa

En la Figura 26 se observa gráficas de superficie de respuesta y contorno para el parámetro a* de las cápsulas con extracto de tumbo serrano, para estos gráficos se

muestran los efectos que produce el pH, CaCl_2 y AlgNa frente a este parámetro de color. Las coordenadas a^* representa los componentes de color rojo a verde tomando valores positivos el color rojo y negativos para el verde (Kuehni, 2013).

Las gráficas (a b, c, d, e y f) que se presenta indican que los valores más altos (>60) de a^* se encuentran a un pH menor (4) y a menor concentración de alginato de sodio (1.2 %). Sin embargo, los valores para obtener menor a^* son el incremento del pH, mayor concentración de AlgNa (1.8 %) y 3.6 % de CaCl_2 ; adquiriendo así cápsulas de color más cercanas al color verde o pérdida de color naranja puro.

A medida que el pH aumentó la cromaticidad naranja disminuyó, ya que probablemente esté relacionado con la presencia del ácido ascórbico, dado que a pH más ácidos posee mayor disponibilidad para reaccionar con los componentes responsables del color, dando como resultado una disminución de la cromaticidad naranja en las cápsulas con extracto de tumbo serrano, resultados similares fueron reportados por el autor Andrade et al (2016) en el parámetro a^* del zumo de naranja cocristalizado.

La concentración de alginato de sodio también fue uno de los factores más influyentes en el aumento del valor de la coordenada a^* (cromaticidad), ya que al incrementar este aditivo los valores fueron disminuyendo y perdiendo la cromaticidad naranja del extracto de tumbo en las cápsulas. Corroborando los resultados con Luján, Agudelo, Igual y Martínez (2013) reportaron el parámetro de cromaticidad de pomelo atomizado disminuyó al aumentar la concentración de soluto añadido (Maltodextrina) y la temperatura.

Los carotenoides son pigmentos vegetales que confieren coloraciones amarillo, naranja y rojo. El tumbo serrano tiene un contenido de caroteno 1.03 (mg β -caroteno/100 gr de pulpa), lo cual le da el color anaranjado intenso al tumbo (Encina y Carpio, 2011). Estos pigmentos son estables en su ambiente natural, mientras sean alterados se degradan (Meléndez-Martínez, Vicario y Heredia, 2004).

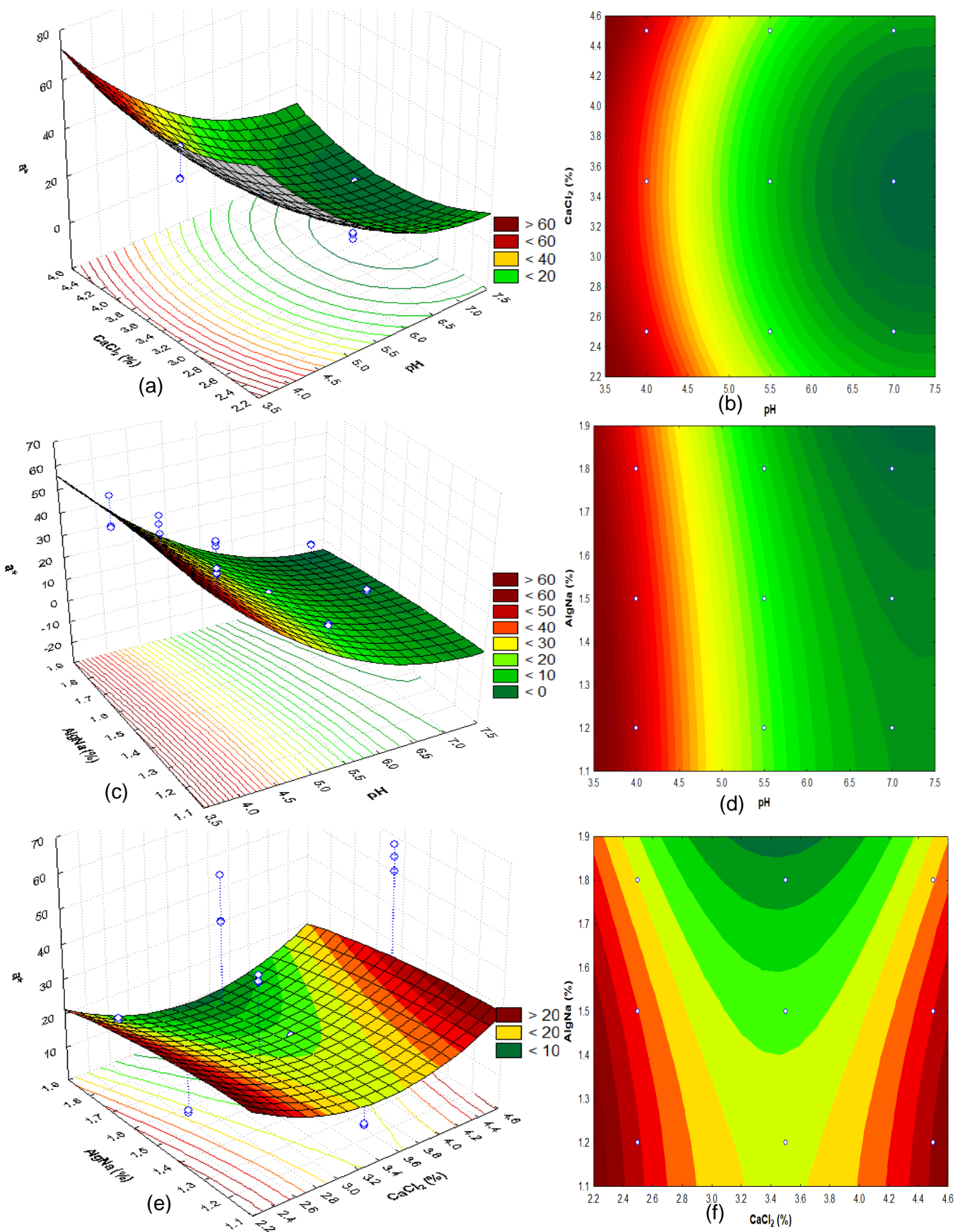


Figura 26. Superficie de respuesta y curvas de contorno para a^* en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).

4.6.3. Parámetro b*

Según la Tabla 32, gráfica de Pareto y tabla de estimación de efecto (Anexo 7.3) los factores con efecto significativo en parámetro b* de las cápsulas fueron el pH (L y Q), CaCl₂ (Q) y AlgNa (Q) con un p< 0.05; con un coeficiente de determinación (R²) = 0.99362 y siendo el factor de mayor influencia el pH (L) con valor F (2990.78).

Tabla 32. Resultados de ANOVA y efecto para el parámetro b*

FACTOR	SS	Df	MS	F	P	Efecto
(1)pH (L)	15783.31	1	15783.31	2990.78	0.000000*	-59.2233*
pH (Q)	495.53	1	495.53	93.897	0.000000*	-9.0878*
(2)CaCl ₂ (L)	2.87	1	2.87	0.544	0.469258	0.7989
CaCl ₂ (Q)	32.93	1	32.93	6.240	0.021322*	-2.3428*
(3)AlgNa (L)	2.98	1	2.98	0.566	0.460766	0.8144
AlgNa (Q)	118.79	1	118.79	22.59	0.000124*	-4.4494*
Error	105.55	20	5.277			
Total SS	16541.96					
R²	0.99362	26				
R adj	0.99171					

(*) Significativo a P< 0.05 y efecto significativo, (L) Lineal, (Q) Cuadrática

Se obtuvo un modelo de segundo orden sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 7.3), que demuestra el comportamiento de los variables sobre la b*:

$$b^* = 394.657 - 64.170(X_1) + 4.039(X_1)^2 + 2.343(X_2)^2 + 49.438 (X_3)^2$$

(Ecuación 19)

dónde: X₁: pH; X₂: CaCl₂; X₃: AlgNa

En la Figura 27 se observa gráficas de superficie de respuesta y curvas de contorno para el parámetro b* de las cápsulas que varía de azul a color amarillo (Kuehni, 2013).

Las gráficas (a y c) presentan mayor valor b* a pH menor (4) y la gráfica (e y f) indica los parámetros óptimos para obtener menor valor b* (<28) 3.4 % de cloruro de calcio 1.5 % de alginato de sodio.

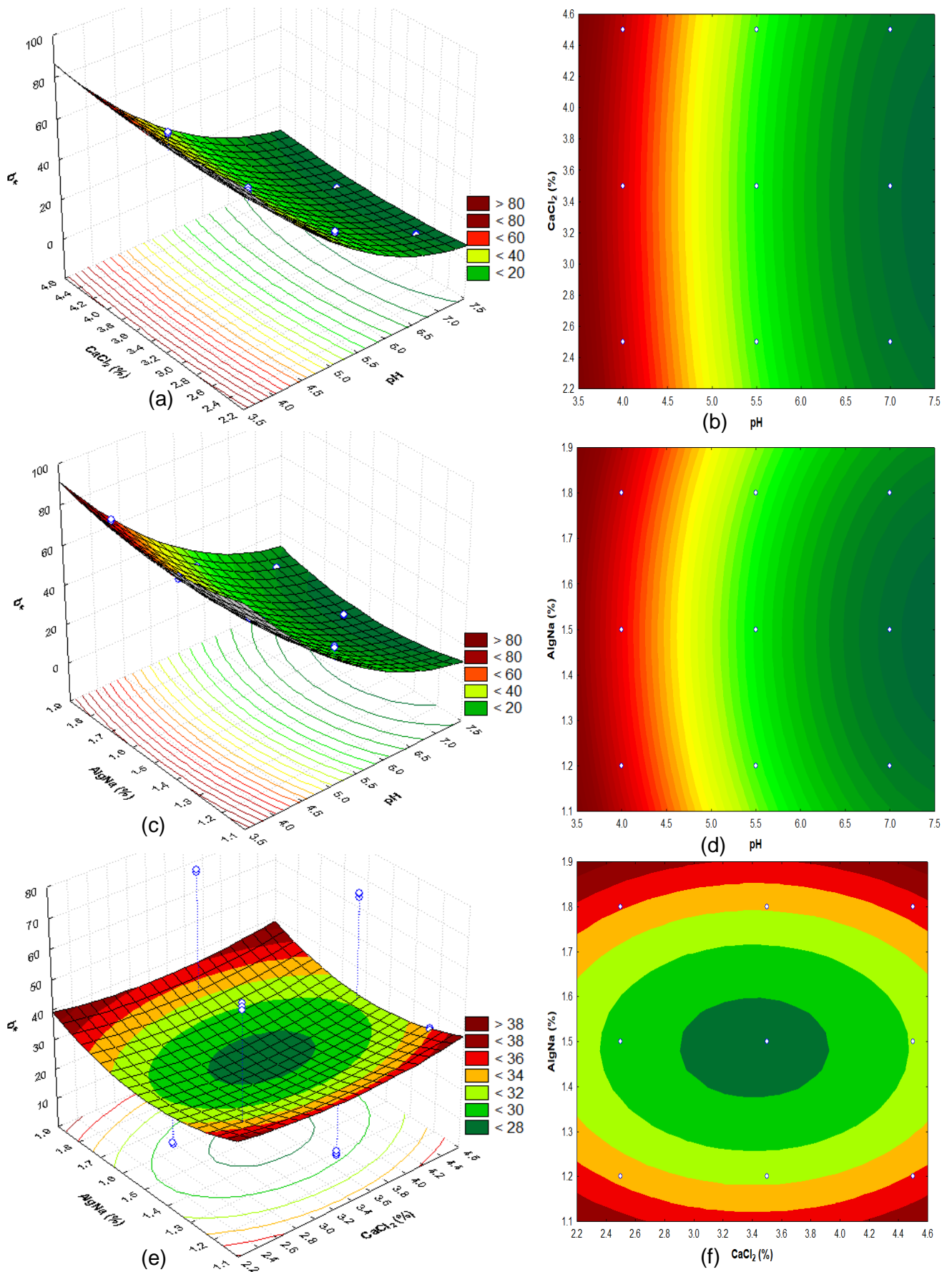


Figura 27. Superficie de respuesta y curvas de contorno para b^* en función a CaCl_2 (%) y pH (a) y (b); AlgNa (%) y pH (c) y (d) y AlgNa (%) y CaCl_2 (%) (e) y (f).

La variación o degradación del color de las cápsulas se dio al incrementar el pH (influida por el NaOH) y la concentración del agente encapsulante, resultados similares observaron Carrillo-Navas, González-Rodea, Cruz-Olivares, Barrera-Pichardo, Román-Guerrero y Pérez-Alonso (2011) en variación de color de las microcápsulas de jugo de maracuyá obtenidas mediante secado por aspersión.

4.7. Caracterización estructural y morfológica de las cápsulas

4.7.1. Tamaño de las cápsulas

Se tomaron una muestra de 100 unidades de cápsulas al azar de cada tratamiento y se registró el diámetro de las cápsulas con un pie de rey digital. Los resultados promedios del diámetro de las cápsulas se presentan en Tabla 33.

Tabla 33. Resultados del diámetro de las cápsulas.

Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Diámetro (mm)
T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	1.76 ± 0.118
T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	1.86 ± 1.104
T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	1.80 ± 0.179
T4	5.5 (0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	2.30 ± 0.303
T5	5.5 (0)	3.5 (0)	1.5 (0)	2.27 ± 0.324
T6	5.5 (0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	2.49 ± 0.388
T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	2.44 ± 0.391
T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	2.38 ± 0.311
T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	2.45 ± 0.295

El diámetro de las cápsulas fluctuó entre 1.76 mm a 2.49 mm equivalentes a 1760 µm y 2490 µm. Aquellos resultados obtenidos son mayores a 1000 µm (>1mm), por ende, serían definidos como perlas, microgránulos o macrocápsulas (Sandoval-Peraza et al., 2016). Cuatzo (2010) mencionó que por el método de gelificación iónica y

utilizando el proceso tradicional se obtienen tamaños de partículas mayores a 1000 μm , excepto sea controlada el sistema.

En la medida que se incrementó el pH de la solución y la concentración de alginato de sodio en las cápsulas el tamaño aumentó significativamente, lo cual indica el aumento de viscosidad. Estudios indican, que se obtiene cápsulas de mayor diámetro en la medida que se trabaja con soluciones más viscosas (Chen y Subirade, 2006). Considerar aspectos que influyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación (Chan y Neufeld, 2009).

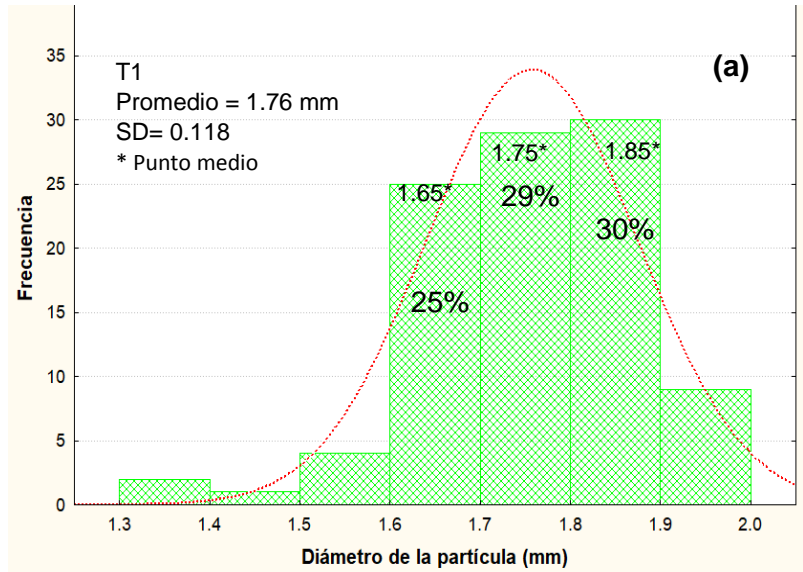
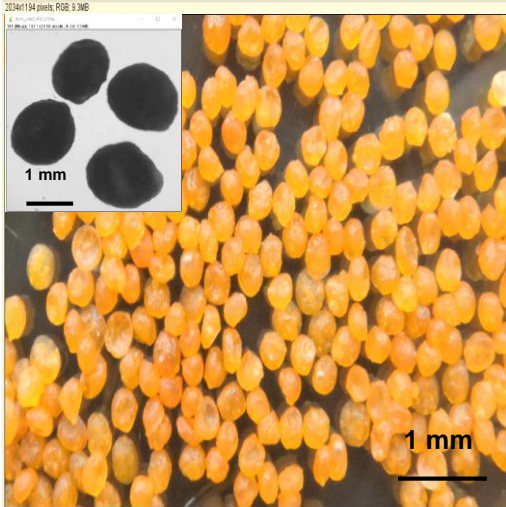
En la Figura 28 se observa los histogramas, que muestran una distribución normal ($p < 0.05$) de tamaño de las cápsulas a pH 4 con sus respectivas imágenes.

La distribución de tamaño de las partículas se divide en dos grupos: dispersión de tamaño estrecha y amplia (Leong, Lam, Ho, Voo, Lee, Lim et al., 2015). En este trabajo de investigación se obtuvo cápsulas con dispersión de tamaño amplias, ya que los histogramas presentan diversas dimensiones de barras.

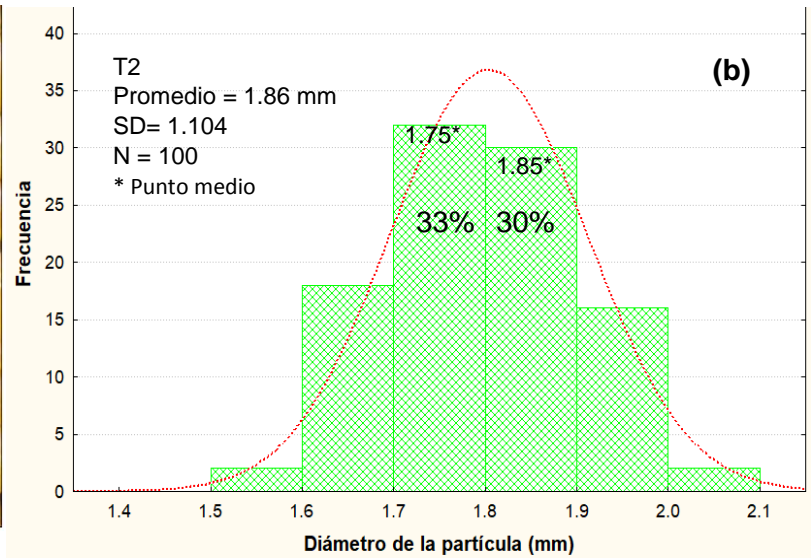
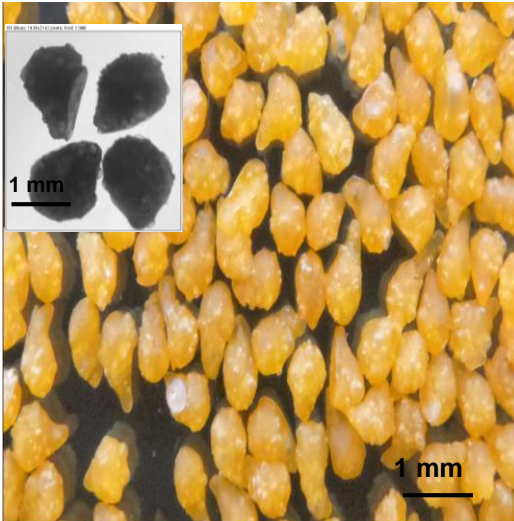
En el tratamiento uno se obtuvo cápsulas de diámetro promedio de 1.76 mm con desviación estándar (SD) 0.118 y se observa en el histograma (a) la distribución de los datos del diámetro, que de acuerdo a la estructura de las columnas son muy variables; dentro de este tratamiento se obtuvo 3 clases de tamaños más altos, siendo la mayor con 30% de frecuencia porcentual y cápsulas con diámetro en un rango de 1.8 a 1.9 mm con un punto medio de 1.85mm.

El histograma (b) muestra que en el tratamiento 2 la clase más alta o cápsulas que pertenecen al diámetro en el rango de 1.7 -1.8 mm, se encuentran en mayor cantidad con 33 % de frecuencia porcentual. Mientras, que el histograma (c) indica que en el tratamiento 3 el 24 % de las cápsulas en su mayoría se encuentran en clase de 1.7 – 1.8 mm, seguido con 22 % de cápsulas de clase 1.8 mm – 1.9 mm. Las cápsulas elaboradas a pH 4 son las que tuvieron menor diámetro frente el resto de los tratamientos.

Tratamiento 1



Tratamiento 2



Tratamiento 3

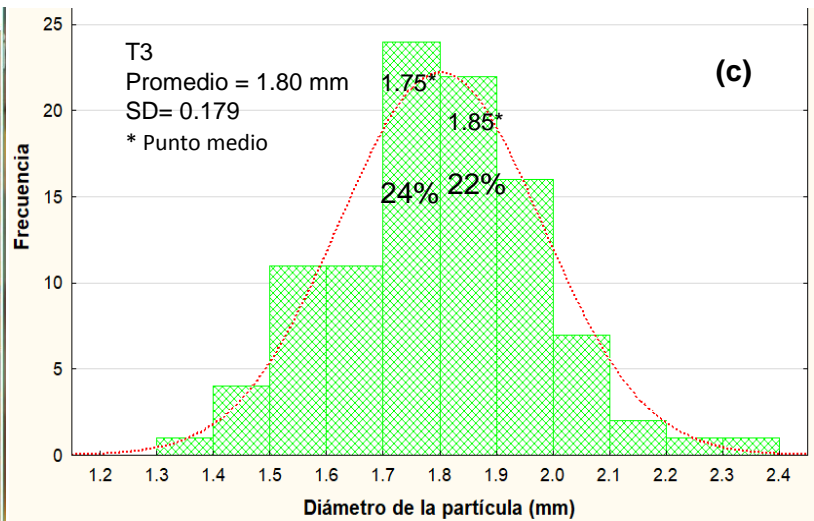
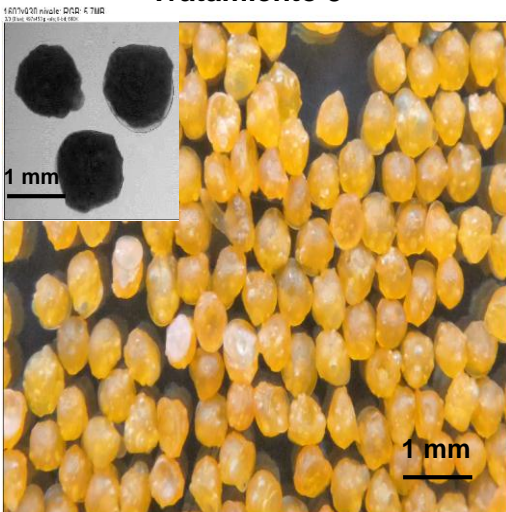


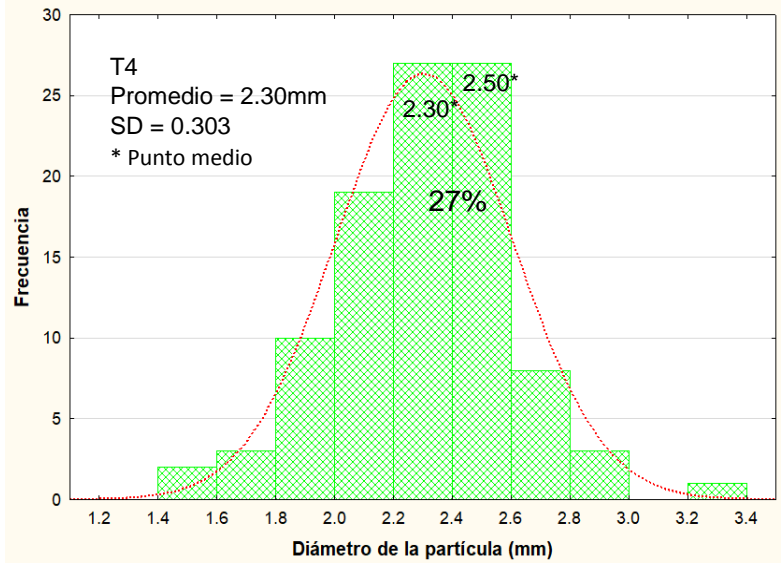
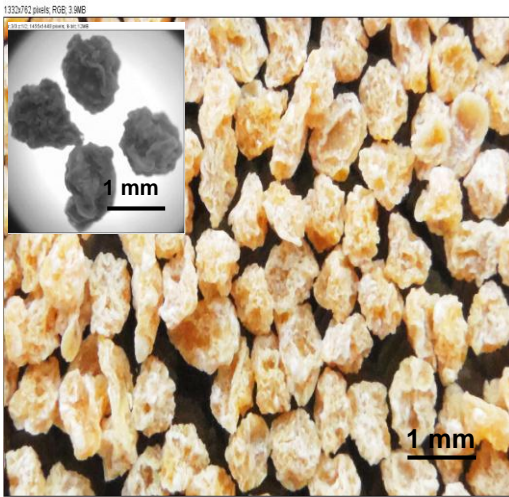
Figura 28. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 4 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (a, b y c).

En la Figura 29 se muestran los histogramas que muestran una distribución normal ($p < 0.05$) de los tamaños de las cápsulas elaborados a pH 5.5 donde el (d) representa al tratamiento 4 e indica la representación dominante de las cápsulas con diámetro de 2.2 – 2.6 mm (e27 %), el (e) representa al tratamiento 5 y muestra que el 30 % de las 100 unidades de cápsulas pertenecen a la clase de 2.2 - 2.4 mm y mientras en (f) del tratamiento 6 el diámetro dominante se divide en dos clases o grupos de rango 2.4 – 2.6 mm y 2.8 – 3 mm ambos el 20 %. En la Figura 30 se muestran los histogramas que muestran una distribución normal ($p > 0.05$) de tamaño de las cápsulas elaborados a pH 7 donde la (g) representa al tratamiento y 7 que indica la representación dominante de las cápsulas con diámetro de 2.4 – 2.6 mm (el 25 %), el (h) representa al tratamiento 8 y muestra que el 20 % de las 100 unidades de cápsulas pertenecen a la clase de 2.5 - 2.6 mm y mientras en (i) del tratamiento 9 el diámetro dominante es 2.5 – 2.6 mm el 27 %.

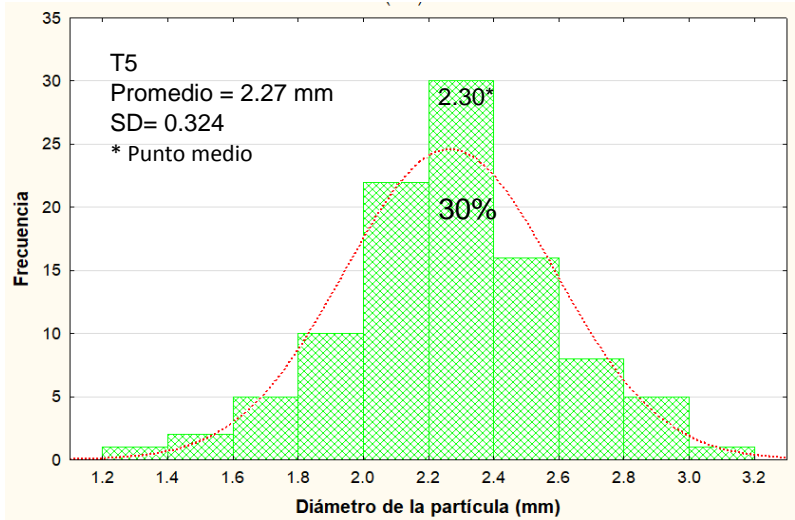
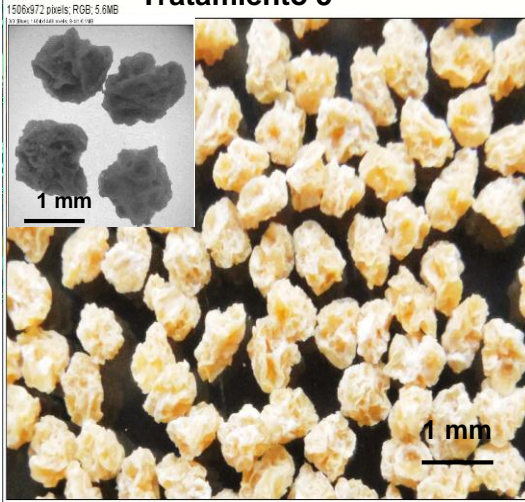
Ortiz (2016) reportó medidas similares en su trabajo de encapsulación de *Lactobacillus plantarum* en Alginato de Calcio con Microestructura modificada, que fueron obtenidas por atomización y por goteo siendo de mucho mayor tamaño las obtenidas por goteo cuyo diámetro máximo fue de 2.970 ± 0.16 mm, en comparación con las de atomización que fue de $0.020 \pm 2.59 \times 10^3$ mm, es decir 20 μ m.

Los factores que afectan al tamaño uniforme y alto esfericidad de las cápsulas mediante el proceso de gelificación iónica pueden ser: Concentración de la solución de alginato de sodio y el tipo de AS, la solución gelificante (tipos de iones y concentración), tamaño de orificio de goteo que puede ser el más influyente, la distancia de caída de la gota y tiempo de inmersión en cloruro de calcio (López, 2012). Otro de los factores que afectan el tamaño de las cápsulas negativamente, son una alta concentración de CaCl_2 y un mayor tiempo en la solución reticulante donde se mantienen las cápsulas (Leong et al., 2015). También se considera la velocidad del agitador magnético aplicada durante la formación de las cápsulas que ha demostrado influir sobre la generación de mayores diámetros si se utiliza a bajas rpm (< 200 rpm) (Silva, Ribeiro, Figueiredo, Ferreira y Veiga, 2006 y Haznedae y Dortune, 2004).

Tratamiento 4



Tratamiento 5



Tratamiento 6

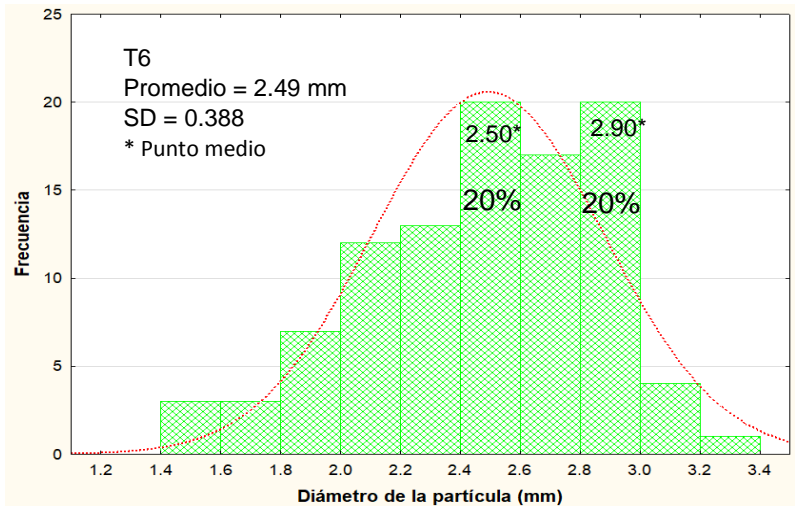
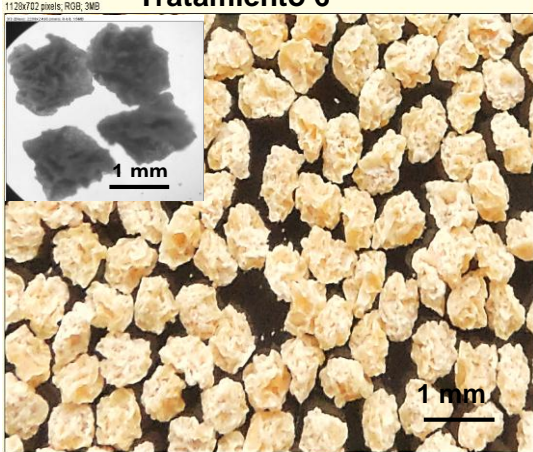
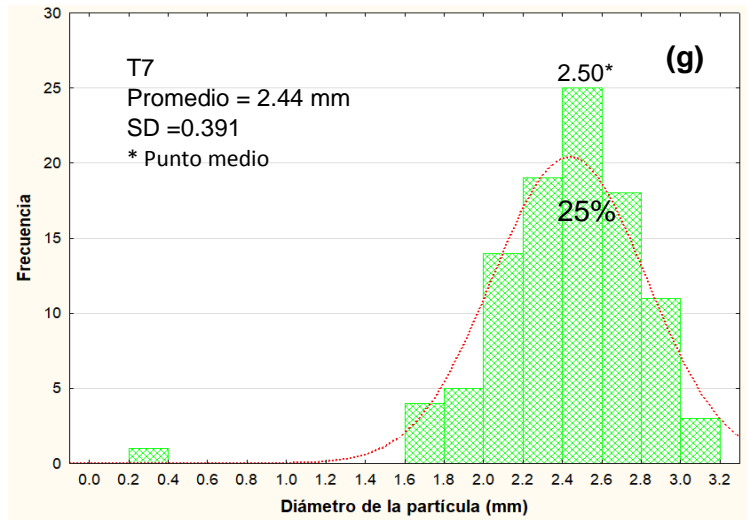
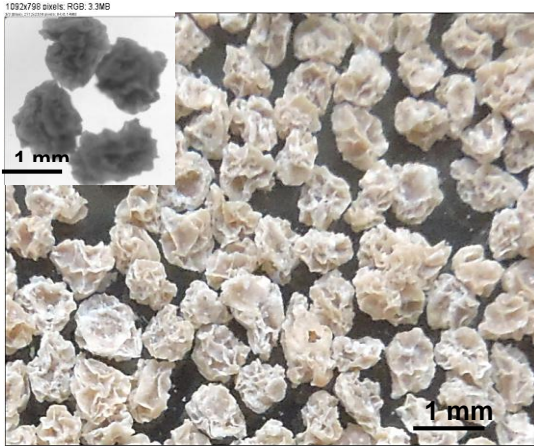
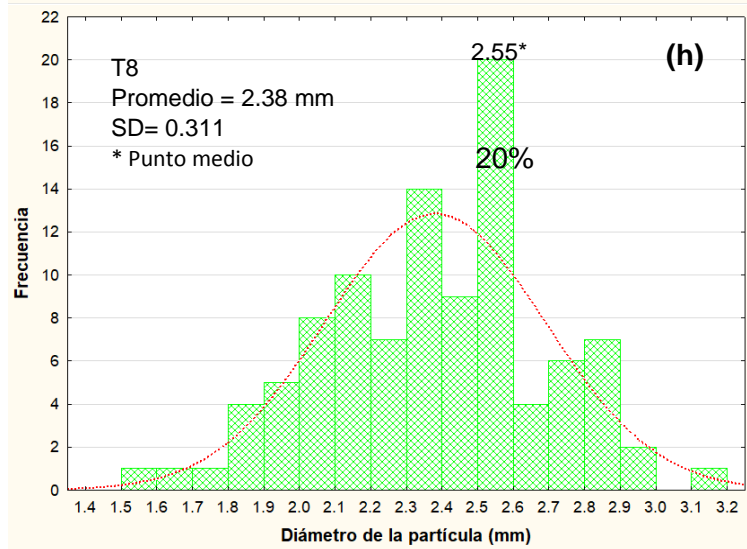
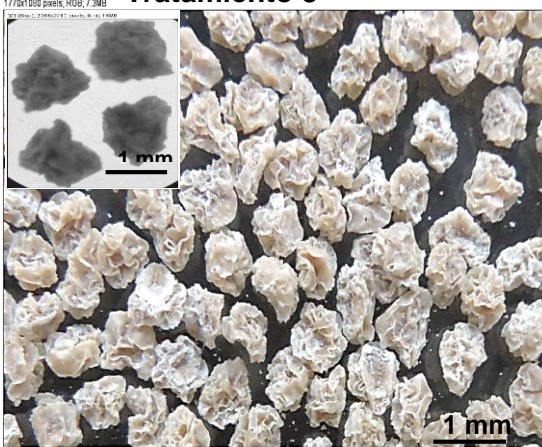


Figura 29. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 5.5 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (d, e y f).

Tratamiento 7



Tratamiento 8



Tratamiento 9

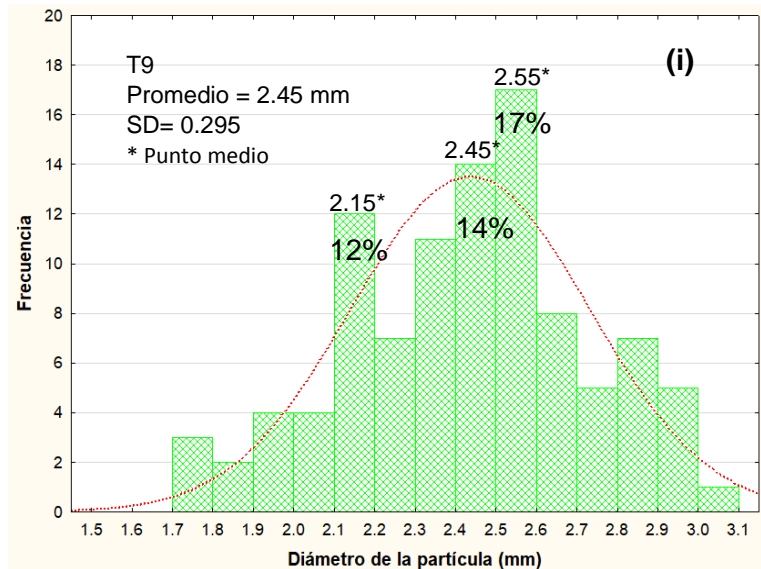
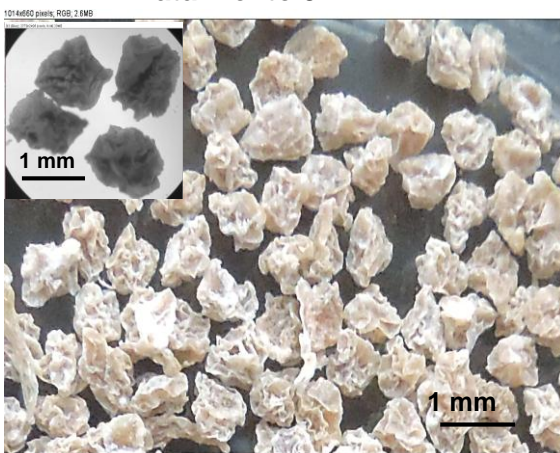


Figura 30. Imágenes de las cápsulas e histogramas de distribuciones de tamaño correspondiente para las cápsulas del extracto de tumbo serrano a pH 7 y a diferentes concentraciones de cloruro de calcio y alginato de sodio, respectivamente (g, h e i).

En la elaboración de cápsulas de alginato de calcio, usando el 1.1 % de CaCl_2 y 1 %, 1.55 % y 2 % de AS, obtuvieron partículas con diámetros que osciló entre 2 mm a 2.9 mm y observaron que con 2 % de AS los diámetros de las partículas fueron mayor, resultados similares obtenidos en este trabajo al incremento de alginato de sodio. También, contribuyeron que la cantidad inicial de cargas superficiales tuvo un alto impacto en el diámetro de las gotas y que la velocidad del flujo de líquido jugó un papel más importante en el diámetro medio de las gotas de alginato por método de caída electrostática en modo de goteo que en modo de inyección (Zhang, Li, Zhang y Xiu, 2007).

El tamaño es un factor importante en la caracterización de las esferas, ya que dependiendo de éste se pueden realizar varias aplicaciones en los alimentos. El tamaño puede estar relacionado con la capacidad de liberación del material encapsulado y la eficiencia de la encapsulación (Saez et al. 2007). Mumper, Huffman, Puolakkainen, Bouchard y Gombotz (1994) y Segi, Yotsuyanagi y Ikeda (1989) observaron una reducción de tamaño de las partículas de gel de alginato cuando el pH se redujo de 4 a 1. Haug, Bjorn y Smidsrod (1963) demostraron que incluso a un pH bajo, se puede producir una hidrólisis del alginato catalizada por protones.

La uniformidad de las cápsulas también fue influenciada por la velocidad de flujo y la técnica de encapsulación por goteo. La extrusión a mano da como resultado partículas de gel con baja uniformidad, mientras que la extrusión por una bomba generalmente producirá partículas de gel uniformes (Lee, Ravindra y Chan, 2013).

4.7.2. Morfología de las cápsulas

Las imágenes de las cápsulas obtenidas a través de un estereoscopio óptico de los 9 tratamientos se muestran en la Figura 31, donde se observa que las cápsulas obtenidas a pH 4 (Figura A, B y C) obtuvieron un aspecto cristalino y compacta. Las cápsulas del tratamiento 1 (AS 1.2 % y CaCl_2 2.5 %) y 3 (AS 1.8 % y CaCl_2 4.5 %) presentaron una forma esférica resultando con mejor superficie lisa y homogénea, siendo la mejor el tratamiento 3. Patiño (2017) muestra resultados similares al

tratamiento 1 y 3 en partículas de AS al 2 % producidas por el “*Jet cutting*” y mientras que en las partículas de AS 1 % más almidón 2 % observaron la irregularidad y la presencia de una especie de cola en las partículas, así como se obtuvo en el tratamiento 2 por la presencia de AS en mayor cantidad en la solución.

A pH 4 se observa que a menor concentración de AS las partículas son más sólidas, esféricas y a medida que va aumentando las cápsulas presentan poros y la irregularidades, que podría relacionarse con el aumento de la viscosidad de las soluciones formadoras de las cápsulas, así como reporta Hernández (2015) en la encapsulación de *Fe Hem* liofilizado por el método de gelificación iónica, con la diferencia de que a mayor proporción de *Fe-Hem* en la solución presentaron mayor viscosidad y consiguieron partículas irregulares. Las apariencias de las cápsulas dependen de la proporción de los materiales utilizados, teniendo en cuenta en este caso la concentración de AS, cloruro de calcio y material a encapsular (Liu, Wan, Xie, Zhai, Zhang y Liu, 2012).

Las cápsulas obtenidas a pH 5.5 y 7 (Figura D, E, F, G, H, I) presentaron una superficie con grietas y forma irregular, similares a la observada por López (2012) en cápsulas de extractos antioxidantes de Yerba mate con AS, por este método de encapsulación.

Además, en este trabajo de investigación se observó también una estructura formada por varias capas de AS en los 6 últimos tratamientos. Dicho comportamiento probablemente fue causado por el proceso de obtención; debido a que cuando la solución reticulante que contiene iones de calcio difunden en la solución e interaccionan formando una red (George y Abraham, 2006).

Draguet et al (2000) y Goh, Heng y Chan (2012) mencionan que la máxima dureza del gel se registra en la superficie, ya que la concentración de alginato de calcio es mayor en ésta y disminuye hacia el centro, por lo que los geles obtenidos no son homogéneos y muestran superficies agrietados, así como se obtuvo en el tratamiento 4 (2.5 % CaCl_2 y 1.8 % de AS), Tratamiento 5 (3.5 % CaCl_2 y 1.5 % de AS), tratamiento 6

(4.5 % CaCl_2 y 1.2 % de AS), tratamiento 7 (2.5 % CaCl_2 y 1.5 % de AS), tratamiento 8 (3.5 % CaCl_2 y 1.2 % de AS) y tratamiento 9 (4.5 % CaCl_2 y 1.8 % de AS).

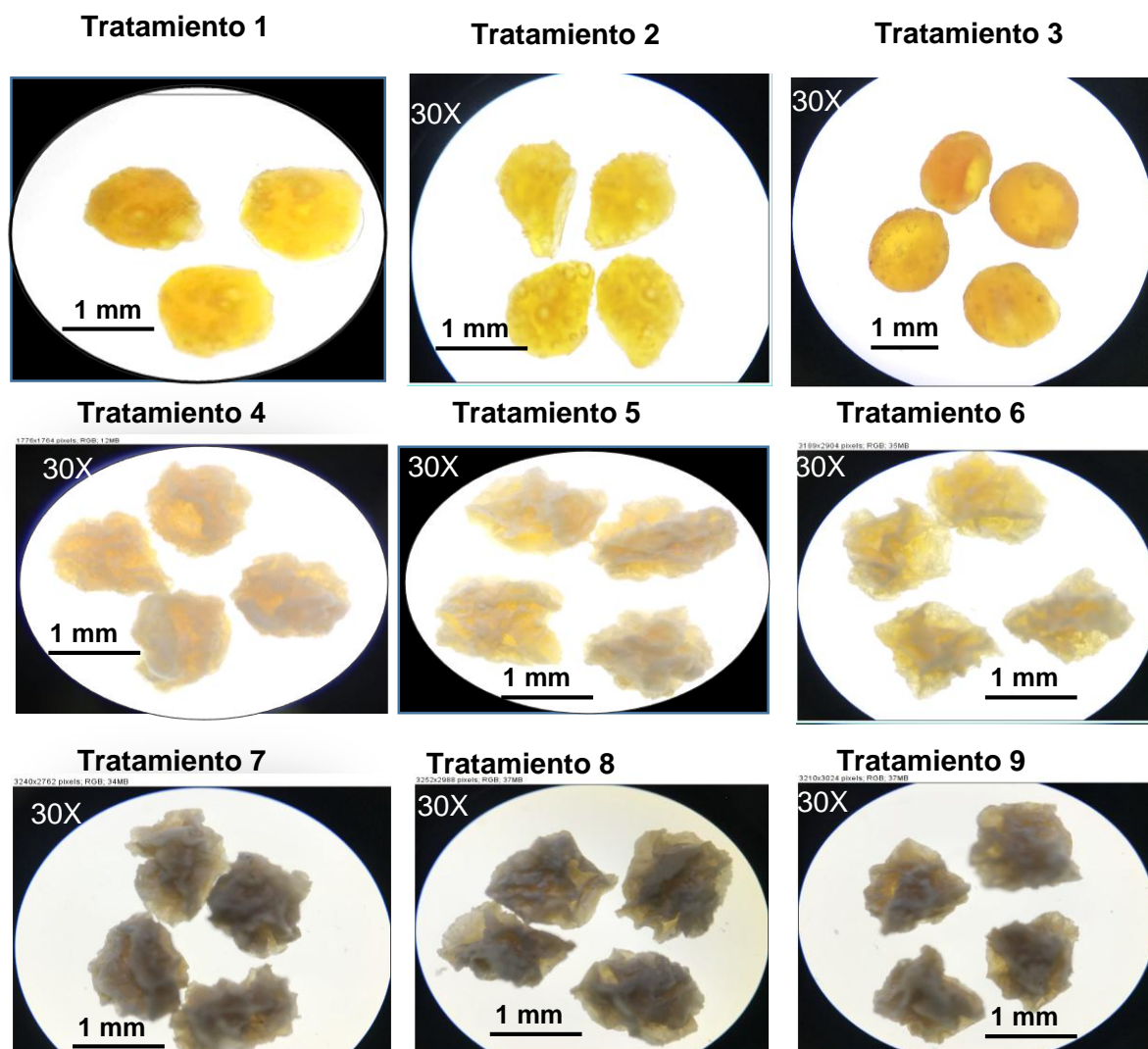


Figura 31. Morfologías obtenidas por estereoscopio óptico de las cápsulas del extracto de tumbo serrano, diferentes tratamientos.

La forma de las partículas o cápsulas dependen del contenido y composición del hidrocoloide (Nussinovitch, 2010). Antes del secado, todas las partículas presentaban la forma esférica y en cuanto a las partículas secas, fue notable que en los últimos tratamientos parecieron sufrir cierto colapso, perdiendo simetría. Las topografías superficiales de las partículas pueden definirse como ásperas (Doherty Gee, Ross, Stanton, Fitzgerald y Brodkorb, 2011). Loyeau (2017) también observó partículas de

morfología similar, al encapsular bacterias probióticas mediante emulsificación y gelificación iónica con alginato de calcio y liofilizado.

La viscosidad de alginato de sodio es casi independiente del pH en un rango entre 5 y 10 debido a un efecto repulsivo de los grupos carboxilos cargados negativamente y el polímero incrementa la capacidad de solubilidad y viscosidad en pH neutro. El descenso de pH de la solución (< 3 o 3.5) provoca que el alginato de sodio es insoluble y precipita en forma de ácido algínico, mientras el incremento de pH por encima de 10 causaría una despolimerización (Avendaño-Romero y López-Malo, 2013). Se menciona también que las soluciones muy viscosas generan cápsulas de aspecto deforme y de superficie irregular (López, 2012). Por lo tanto, es la causa de la obtención de cápsulas irregulares en pH 5.5 y 7 (Figura D, E, F, G, H, I) y aún con mayor contenido de AS.

Pasparakis y Bouropoulos (2006) asume que otro de los factores que puede afectar la morfología de las cápsulas es la metodología de secado, lo cual en la presente investigación se realizó el secado de las cápsulas de tumbo a 30 °C por 24 h en un horno de secador de bandejas y Hernández (2015) secó las cápsulas de yerba mate en una estufa de convección forzada a una temperatura de 65 °C durante 3 h obteniendo cápsulas secas con superficie con poros y grietas. Son características similares en las cápsulas obtenidas en esta investigación.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Las características físicas, fisicoquímicas y contenido de compuestos bioactivos del tumbo fresco fueron: Estado de maduración Pintón (color amarillo-verdoso), longitud 11.23 ± 0.744 cm, diámetro 4.3 ± 0.240 cm, peso 102.88 ± 8.695 gr, humedad 86.45 ± 0.646 %, pH 3.42 ± 0.006 , sólidos solubles 13.23 ± 0.057 °Brix, Acidez titulable 2.59 ± 0.070 %, ácido ascórbico 70 ± 0.0014 mg/ 100 mL y fenoles totales 2145.81 ± 0.067 mg GAE/100 mL.

La eficiencia de encapsulación de compuestos bioactivos, los factores más influyentes fueron el pH, concentración de cloruro de calcio, alginato de sodio, siendo significativos con $p < 0.05$ según ANOVA. Se obtuvo mayor EE del ácido ascórbico con 95 ± 0.009 % en el tratamiento tres a pH 4, CaCl_2 4.5 % y AlgNa 1.5 % y la EE de fenoles totales fue mayor en el tratamiento seis con 90 ± 1.002 % a pH 5.5, CaCl_2 4.5 % y AlgNa 1.2 %. Para ambos la eficiencia fue alta en pH bajos, menor concentración de AS y mayor concentración de cloruro de calcio.

Las propiedades fisicoquímicas de las cápsulas fueron: menor humedad 9.86 ± 0.101 %, actividad de agua 0.36 ± 0.002 y mayor porcentaje de solubilidad de las cápsulas en el agua 37.27 ± 0.453 % en el tratamiento siete a pH 7, CaCl_2 2.5 % y AlgNa 1.5 %, respectivamente. Menor higroscopicidad 20.69 ± 0.417 % en el tratamiento tres.

Las propiedades de flujo de las cápsulas se obtuvieron, mayor densidad aparente con 0.738 ± 0.007 g/cm³ y densidad compacta con 0.784 ± 0.008 g/cm³ en el tratamiento uno a pH 4, CaCl_2 2.5 % y AlgNa 1.2 %, respectivamente en las cápsulas de menor diámetro.

Los parámetros de color de las cápsulas presentaron más dependencia con el aumento del pH y el incremento de AS. Se obtuvo una luminosidad (L^*) con menor valor de 32.02 ± 0.022 , la coordenada a^* con mayor valor de 57.64 ± 0.349 en el tratamiento uno a pH 4, CaCl_2 2.5 % y AlgNa 1.2 % y la coordenada b^* con mayor valor de $73.57 \pm$

0.486 en el tratamiento dos a pH 4, CaCl_2 3.5 % y AlgNa 1.8 %. Los tratamientos a pH 4 obtuvieron valores más cercanos a los valores del extracto de tumbo fresco ($L^* = 41.58 \pm 0.330$, $a^* = 22.31 \pm 0.254$ y $b^* = 45.38 \pm 0.042$), manteniendo el color naranja.

Análisis estructural de las cápsulas el factor de mayor influencia fue el pH. Dado que, se obtuvieron menores diámetros (1.76 a 1.86 mm) y una morfología cristalina, compacta y forma esférica en las cápsulas producidas a pH 4. Mientras que, a mayor pH los diámetros fueron relativamente mayores (2.27 a 2.49 mm) y en la morfología de las cápsulas se presentaron formas irregulares, porosas y superficies agrietados. Según el tamaño de las cápsulas son consideradas como perlas o macrocápsulas.

Se llegó encapsular el extracto de tumbo serrano por el método de gelificación iónica y técnica de goteo, adquiriendo cápsulas húmedas en todos los tratamientos de forma esféricas a una altura de 7 cm en sistema construido, obtenido cápsulas secas con mejor morfología en el tratamiento tres.

5.2. Recomendaciones

Para una próxima investigación se recomienda los siguientes puntos:

- Realizar un estudio de almacenamiento del extracto del tumbo serrano considerando diferentes tipos de empaque.
- Trabajar a diferentes temperaturas de secado de las cápsulas.
- Utilizar un material para el refuerzo de la matriz o material de relleno inerte, para la mayor estabilidad del material encapsulante (Ejemplo el almidón, etc.).
- Para mejor encapsulación del extracto de tumbo serrano por este método considerar el rango de pH a partir de 3.7 a 6.
- Trabajar a diferentes volúmenes de la solución reticulante.
- Estudiar otros factores que afecten el proceso de encapsulación como el tiempo, revoluciones de agitación, cambiar de agente encapsulante, viscosidad, distancia de goteo, cambiar la técnica de encapsulación por el método de gelificación iónica, entre otros.

- Utilizar otros diseños estadísticos para la optimización de la encapsulación del extracto de tumbo serrano.
- Realizar estudios de encapsulación por el método de gelificación iónica y atomización de diferentes frutos o vegetales.
- Estudio de vida útil de las cápsulas.

REFERENCIAS

- Andrade, R. D., Blanquicett, K., y Rangel, R. D. (2016). Efecto del pH, Sólidos Solubles y Zumo Adicionado sobre el color y la Vitamina C de Zumo de Naranja Agria Cocrystalizado. *Información tecnológica*, 27(6), 129-134.
- Angón-Galván, P., Santos-Sánchez, N. F., y Hernández-Carlos, G. (2006). Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. Universidad tecnológica de la Mixteca. Instituto de Agroindustrias.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1996). Official methods of analytical of the association of official analytical chemists.
- Avendaño-Romero, G.C., López –Malo, A y Palou E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos. C.P.72810. México.
- Blandino, A., Macias, M., & Cantero, D. (1999). Formation of calcium alginate gel capsules: influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics. *Journal of bioscience and bioengineering*, 88(6), 686-689.
- Blandino, A., Macias, M., & Cantero, D. (2001). Immobilization of glucose oxidase within calcium alginate gel capsules. *Process Biochemistry*, 36(7), 601-606.
- Brownlie, K. (2007). Marketing perspective of microencapsulation technologies. Encapsulation and controlled released technologies in food systems. Iowa, USA. Ed. *Blackwell Publishing*. 213-234.
- Button, S. T. (2012). Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados. Universidade Estadual de Campinas.
- Cahuaya Rivera, G. M. (2017). *Efecto del secado por aspersion en el contenido de vitamina c, capacidad antioxidante y características fisicoquímicas de jugo de naranja*. (Tesis para optar el grado de Ingeniero en industrias alimentarias). Universidad Nacional del centro del Perú. Facultad de ingeniería en industrias alimentarias. Huancayo-Perú.

- Calero José, Sánchez Yader F., Tórrez Roberto, Hernann Ena y López Kaitlin. (2008). Elaboración y caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de diclofenac obtenidas por gelificación iónica. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias Químicas. Nicaragua. *Editorial universitaria. Volumen 1, n° 2, 2008,27-30.*
- Cárdenas O.P E. y Huamán V., M.A. (2015). *Evaluación de tipo de encapsulante y temperatura de aire de secado por atomización en el contenido de ácido ascórbico, carotenoides totales y capacidad antioxidante de tumbo (Passiflora mollissima L.).* (Tesis para optar el grado de Ingeniero en industrias alimentarias). Universidad Nacional del centro del Perú. Facultad de ingeniería en industrias alimentarias. Huancayo-Perú.
- Carrillo-Navas, H., González-Rodea, D. A., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J.F., Román-Guerrero, A., & Pérez-Alonso, C.. (2011). Storage stability and pHyscochemical properties of passion fruit juice microcapsules by *spray-drying*. *Revista mexicana de ingeniería química, 10(3), 421-430.*
- Cervantes R., Pimentel K. y Pinzón S. (2017) Determinación de ácido ascórbico por espectrofotometría. Universidad autónoma de Chiriquí, Facultad de ciencias naturales y exactas, escuela de farmacia. Panamá.
- Chacon, A. 2009. Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo "crotin de chavignol". *Agronomía mesoamericana. 20(2):297-309.*
- Chan, A.; Neufeld, R. (2009). Modeling the controllable pH-responsive swelling and pore size of networked alginate based biomaterials. *Biomaterials. 30(30):6119-6129.*
- Chan, E. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydr. Polym. 84:1267-1275.*
- Chaparro-Rojas, Diana Carolina, Maldonado, María E, Franco-Londoño, María Camila, & Urango-Marchena, Luz Amparo. (2015). Características nutricionales y

- antioxidantes de la fruta curuba larga (*Passiflora mollissima* Bailey). *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(2), 203-212. <https://dx.doi.org/10.17533/udea.penh.v16n2a07>
- Chapman, V. J. (1980). *SeaWeeds and their uses*. Chapman and Hall, London.
- Chen, Jianshe, & Dickinson, Eric. (1999). Effect of surface character of filler particles on rheology of heat-set whey protein emulsion gels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12(3-6), 373-381. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(98\)00091-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(98)00091-5)
- Chen, L., & Subirade, M. (2006). Alginate-whey protein granular microspheres as oral delivery vehicles for bioactive compounds. *Biomaterials*, 27(26):4646-4654.
- Cieślík, E., Gręda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food chemistry*, 94(1), 135-142.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food research international*, 44(7), 2047-2053.
- Cuatzo L., M. I. (2010). *Efectos de las condiciones de proceso en la conservación de alimentos encapsulados por el método de gelificación iónica*. (Tesis para obtener el grado de Maestra en ciencias en alimentos). Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México.
- Cubero, N., Montferrer, A. y Villala, J. (2002). *Aditivos alimentarios*. Madrid, España. *Ediciones Mundi Prensa*. 236p.
- Doherty, S. B., Gee, V. L., Ross, R. P., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Brodkorb, A. (2011). Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1604-1617.
- Draget, K. I., Gåserød, O., Aune, I., Andersen, P. O., Storbakken, B., Stokke, B. T., and Draguet, K. I. (2000). Handbook of hydrocolloids (Phillips G.O. y Williams ed.). New York, Washington, DC. drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411-418.

- Elayo. (2018). *Tecnología innovadora: Encapsulación de aceite de oliva y otros ingredientes*. Jaén: Hacer campestres S. L. Recuperado de <https://www.elayo.es/innovacion/>.
- Elena de W. (1975). *Consejos sobre el régimen alimentación*. Recuperado de [frutas.Autor.Copyright@212](https://www.repositorio.cepal.org/publicaciones/1/S1201001.es).
- Encina, Z. C. y Carpio, R. L. J. (2011). Máxima retención de ácido ascórbico, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el néctar de tumbo. Ingeniería industrial. Universidad nacional agraria la molina y Universidad Nacional Federico Villarreal. *ISSN: 1025-9929*.
- Fernandes, R. B., Borges, S. V., Botrel, D. A., & Oliveira, C. (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. *International Journal of Food Science & Technology, 49(6), 1522-1529*.
- Figura, L. & Teixeira, A.A., (2007). Food Physics: Physical Properties- Measurement and Applications. *Springer Science & Business Media. 550 p*.
- Food ingredients brasil. (2013). Microencapsulação a serviço da indústria alimentícia. Nº25. Brasil.recuperado de www.revista-fi.com.
- García Martínez, Eva, Fernández Segovia, Isabel y Fuentes López, Ana. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad politécnica de Valencia, departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia.
- George, Meera; Abraham, T. Emilia. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan—a review. *Journal of controlled release, vol. 114, no 1, pp. 1-14*.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *ScienceDirect. 1107-1121*.

- Goh, C. H., Heng, P. W. S., & Chan, L. W. (2012). Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 1-12.
- Gombotz, W. R., & Wee, S. F. (1998). Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 31:267-285.
- Gómez Cruz, N., López Malo, A., Palou García, E. & Jiménez Munguía, M. (2017). Determinación de la eficiencia de encapsulación y oxidación del aceite esencial de canela microencapsulado mediante secado por atomización y evaluación de sus propiedades. México.
- González A., G.G. (2009). Estabilidad intercambio de iones cálcico en geles de alginato. Instituto Tecnológico de Durango. Departamento de ingenierías química y Bioquímica. Victoria de Durango.
- Guevara-Bretón & Jiménez-Munguía (2008) Materiales usados en la microencapsulación. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 22-2720.
- Gutierrez F., Albillos S., Casas-Sanz E., Cruz Z., Estrada C., Guerra A., et al. (2013). Methods for the nanoencapsulation of β -caroteno in the Food sector. Doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.007.
- Gutiérrez, H. (2008). Análisis y diseño de experimentos, 2nd Edición, Mc GrAw Hil.
- Haug, A., Bjorn, L., & Smidsrod, O. (1963). The degradation of alginates at different pH values. *Acta Chemica Scandinavia*. 17:1466-1468.
- Haznedar S, & Dortunc B. (2004). Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. *Int J PHarm*, 269: 131-140. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpHarm.2003.09.015>.
- Hernández Gálvez, V. S. (2015). *Encapsulación de hierro hemínico en cápsulas de alginato de sodio como un suplemento oral para cerdos neonatos: Estudio in vitro*. (Tesis para optar el grado de Médico Veterinario). Universidad de Chile. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Escuela de ciencias veterinarias. Chile.

- Hernández, Iliana, Ventura, Belmares, Contreras, Michelena et al. (2016). Microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. ISSN:0138-6204.Cuba.
- Instituto de investigaciones agropecuarias (INIA, 2015). Atributos de calidad de tumbo (*Passiflora mollissima*) y locoto (*capsicum pubescens*). Chile.
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2009). Tablas peruanas de composición de Alimentos. Elaborado por María Reyes García; Iván Gómez-Sánchez Prieto; Cecilia Espinoza Barrientos; Fernando Bravo Rebatta y Lizette Ganoza Morón. 8 ed. Perú. SBN 978-9972-857-73-7
- Jacho, A. y C. Vásquez. (2011). *Efecto de una pectinasa e hidróxido de calcio en las características físico-químicas y sensoriales de jugo de sábila con naranja. Trabajo de grado* (Ingeniería en agroindustria alimentaria), Universidad de Zamorano, Honduras.
- Jiménez Cruz., E. (2011). Encapsulación de *Lactobacillus paracasei* en una matriz de alginato- almidón a través de: Atomización –Coacervación-Lecho fluidizado. (Tesis para optar el título de Maestría en ciencias alimentarias). Universidad Veracruzana. Instituto de ciencias básicas. Xalapa, Veracruz.
- Khalida N., Kobayashi I., Neves N., Uemuraa K., Nakajimaa M. & Nabetani H. (2014). Monodisperse W/O/W emulsions encapsulating l-ascorbic acid: Insights on their formulation using microchannel emulsification and stability studies. doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.04.019.
- Kuehni, R. G. (2013). Color space and its divisions: color order from antiquity to the present in: R.G. Kuehni (Ed.), Historical Development of Color Space and Color Difference Formulas, John Wiley and Sons, pp. 204–270.
- Kuhn, R. J. (2013). *Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (Eugenia uniflora L.)*. (Tesis inédita de Maestría en ciencia y tecnología de Alimentos). Universidad Federal de pelotas, Departamento de ciencia y tecnología Agroindustrial. Brasil. Ciencia y tecnología de alimentos. Campiña, 25(4): 726-732.

- Kurozawa, E. L. & Dupas H. M. (2017). Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. *Elsevier. Brazil*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.06.004>.
- Lee, B. B., Ravindra, P., & Chan, E. S. (2013). Size and shape of calcium alginate beads produced by extrusion dripping. *Chem. Eng. Technol.* 36:1627-1642.
- León, M. D. C y Riveros, C. J. D. (2014) Extracción y caracterización química de las pectinas de las cáscaras del maracuyá amarillo (*passiflora edulis*, Var *Flavicarpa degener*), Granadilla (*passiflora ligularis Juss*) y tumbo serrano (*Passiflora mollissima H.B.K. Bailey*). (Tesis inédita de ingeniero químico). Callao. Universidad Nacional del Callao. Facultad de ingeniería química. Perú.
- Leong, J. Y., Lam, W.H., Ho, K. W, Voo, W. P., Lee, M.F., Lim, S.L., Lim, H.P., Tey, B.T. et al. (2015). Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. *Particuology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.partic.2015.09.004>.
- Lewis, M. J., (1987). Physical Properties of Foods and Food Processing Systems. Chichester, UK: *Ellis Horwood Ltd*. P 51-64.
- Liu, L., Wan, Y., Xie, Y., Zhai, R., Zhang, B., & Liu, J. (2012). The removal of dye from aqueous solution using alginate-halloysite nanotube beads. *Chem. Eng. J.* 187:210-216.
- Lopes, T. J., Xavier, M. F., Quadri, M. G. N., & Quadri, M. B. (2007). Anthocyanins: A brief review of structural characteristics and stability. *Brazilian Journal of Agricultural Science*, 13(3), 291-297.
- López C., F. (2012). *Desarrollo de sistemas de encapsulación compuestos para la protección de extractos antioxidantes de Yerba Mate*. (Tesis para obtener el grado de Magister en Tecnología e Higiene de los Alimentos). Universidad Nacional de I Platal. Facultad de Ciencias Exactas. Buenos Aires.
- Lorenzo, G., Zaritzky, N., & Califano, A. (2013). Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. *Food Hydrocolloids*. 30:672-680.

- Losada, S. & Bravo, C. (2017). Free radicals and polyphenols: *The redox Chemistry of neurodegenerative diseases*.doi.org/10.1016/j.ejemech.2017.03.061.
- Loyeau, P. A. (2017). Encapsulación de bacterias probióticas, *bifidobacterium animalis subsp. Lactis* INL 1, utilizando emulsiones de productos de reacción de maillard y aceite de girasol mediante gelificación de alginato de calcio. Universidad Nacional del Litoral.
- Luján-Olivares, G., Agudelo, C., Igual, M., y Martínez-Navarrete, N. (2013). Optimización de las Condiciones de Atomización de pulpa de pomelo. Trabajo Fin de Master. Universidad Politécnica de Valencia, 20.
- Lupo, B., Maestro, A., Porras, M., Gutiérrez, J.M., & González, C. (2013) Preparation of alginate microspHeres by emulsification/internal gelation to encapsulate Cocoa polyphenols, *Food Hydrocolloids*, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.11.003.
- Marqués, M. (2009). Influência de encapsulantes e do método de secagem nas propriedades físico-químicas e atributos de qualidade de polpa de maracujá (*passiflora edulis f. flavicarpa*) em pó. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. São Jaze do Rio Preto
- Martín Villena, M. J., Morales Hernández, M. E., Gallardo Lara, V. y Ruiz Martínez, M. A. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS PHarmaceutica. España. ISSN: 0004-2927*.
- Meléndez-Martínez, A., Vicario, I. y Heredia, F. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*. Vol.54 N° 2. España.
- Miravet Valero, G. M. (2009). *Secado por atomización de zumo de granada*. (Tesis para optar el título de Master en Ingeniería Ambiental y procesos químicos y biotecnológicos). Universidad Politécnico de Cartagena. Escuela técnica superior de Ingeniería Industrial. Cartagena.
- Molina, E. (2012). El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. *Revisión en nutrición clínica*. IIDENUT.ISSN: 1109-1119.

- Montgomery, D. (1991). Métodos y diseños de superficie de respuesta: Diseños y análisis de experimentos. España: Iberoamericana.
- Montgomery, D. C. (2004). Diseño y análisis de experimentos. Universidad estatal de Arizona.
- Moura, S.C.S., Berling, C.L., Germer, S.P.M., Alvim, I.D., & Hubinger, M.D. (2017). Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles, *Food Chemistry*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.095>.
- Multon, J. L. (2000). Aditivos y auxiliares de fabricación en los ingredientes Agroalimentarios. 2da edición. Zaragoza España. Ed. Acribia. 680p.
- Mumper, R. J., Huffman, A. S., Puolakkainen, P. A., Bouchard, L. S., and Gombotz, W. R. (1994). Calcium-alginate beads for the oral delivery of transforming growth factor- β 1 (tgf- β 1): Stabilization of tgf- β 1 by the addition of polyacrylic acid within acid-treated beads. *Journal of Controlled Release*. 30:241-251.
- Muñoz Jáuregui, Ana María, Ramos-Escudero, D. Fernando, Alvarado-Ortiz Ureta, Carlos, & Castañeda Castañeda, Benjamín. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(3), 142-149.
- Murga R., E.G. (2014). *Estudio del secado por atomización de la pulpa de guayaba (Psidium guajava L.) del ecotipo rosado*. (Tesis para optar el título de Ingeniero en industrias alimentarias). Universidad Nacional Agraria de la Silva. Facultad de ingeniería de industrias alimentarias. Tingo María.
- Myers, R. H.; Montgomery, D. C.; Anderson-Cook, C. M. (2009) Response surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments. 3 ed. Hoboken, New Jersey - EUA: WILEY.
- Nava, R., Michelena, A., Iliná, A. y Martínez, H. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas calientes. México.

- Niedz, R., and Evens, T. (2009). Calcium-alginate hydrogel swelling models are not pH dependent. *Chemical Engineering Science*. 64:1907.
- Nussinovitch A. (2010). Polymer Macro- and Micro-Gel Beads: Fundamentals and Applications. Israel: Springer (en línea). 10 vol. ISBN: 9781441966179.
- Ocampo, O. (2014) El cultivo de curuba larga (*Passiflora mollissima*) en el departamento de Antioquía y su manejo agronómico en la vereda yurumal del municipio de Sonsón. Tesis. Universidad nacional abierta ya distancia. Escuela de ciencias agrícolas, pecuarias y del ambiente.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2007). Guía de campos de los cultivos andinos. ISBN 978-92-5-305682-8.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2006). Fichas técnicas productos frescos y procesados: *Passiflora mollissima* (Curuba). Roma.
- Organización mundial de la Salud. (2014). Enfermedades no transmisibles, perfiles de países.
- Organización mundial de la Salud. (2016). Enfermedades no transmisibles, perfiles de países.
- Ortiz M. F. (2016). Encapsulación de "Lactobacillus plantarum" en Alginato de Calcio con Microestructura Modificada. (Tesis para obtener el grado de Maestro en ciencias alimentarias). Universidad Veracruzana. Instituto de Ciencias Básicas. Xalapa de Enríquez, Veracruz.
- Pacheco-Aguirre, J., Rosado-Rubio, G., Betancur-Ancona, D., y Chel-Guerrero, L. (2008). Perspectivas de la inmovilización de ingredientes activos por microencapsulación. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*.
- Pasparakis, G.; & Bouropoulos, N. (2006). Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate–chitosan beads. *Int. J. Pharm.* 323:34-42.

- Patiño P., D.B. (2017). *Desarrollo y caracterización de partículas de hidrocoloides producidas por el método "Jet Cutting"*. (Tesis para optar el grado de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria). Escuela Agrícola Panamericana. Carrera de Agroindustria Alimentaria. Zamorano-Honduras.
- Picot A. & Lacroix C. (2004). Encapsulation of *bifidobacteria* in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt. *International Dairy Journal*, 14:505-515.
- PROMPERÚ. 2017. Exportación del producto tumbo según sus principales mercados en Kg 2012-2017. SUNAT.
- Quek S., Yuil Y. & Zjuk L. (2007). The physicochemical properties of spray-drier watermelon powders. *Chemical engineering and processing*. 46-5.
- Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Madrid. España. ISSN: 0212-1611.
- Ramos, C. (1991). Evaluación de los Ácidos Ascórbicos, Estudio de las Vitaminas C de Todos los Frutos que Contiene en Mayor Cantidad. Lima, Perú.
- Rezende, Y.R.R., Nogueira, J.P., Narain, N. (2018) Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization, *Food Chemistry* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>.
- Riveros, C.A. (2015). *Estabilidad de la vitamina C del zumo de atomizado de aguayanto (Physalis peruviana L), Utilizando distintos encapsulantes*. (Tesis inédita de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional de Huancavelica. Escuela profesional de ingeniería agroindustrial. Perú.
- Rodrigues, M. I., & Iemma, A. F. (2012). *Experimental Design and Process Optimization*. CRC Press.

- Rojano, Benjamín Alberto, Zapata Acosta, Karol, y Cortes Correa, Farid B. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 408-419.
- Saez V, Hernández J, y Peniche C. (2007). Las microesferas como sistemas de liberación pHyiscochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. *Food Chemistry*.
- Saikia, S., Mahnot, N. K., & Mahanta, C. L. (2015). Optimisation of pHenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, 171, 144–152.
- Sánchez, V. V. y Mendez, S. N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *RevInvest Med Sur Mex*: 161-168.
- Sandoval, S. D. (2010). Cuantificación de Ácido Ascórbico (Vitamina C) en Néctares de Melocotón y Manzana Comercializados en Supermercados de la Ciudad Capital. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Sandoval-Peraza, V.M., Cu-Cañetas, T., Peraza-Mercado, G., y Acereto-Escoffié, P.O.M. (2016). Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticos. En M.E. Ramírez Ortiz (Ed.). *Alimentos Funcionales de Hoy*. Barcelona, España: *OmniaScience*. 181-218.
- Segi, N., Yotsuyanagi, T., and Ikeda, K. (1989). Interaction of calcium-induced alginate gel beads with propranolol. *Chemical and PHarmaceutical Bulletin*. 37:3092-3095.
- Silva, C., Da Costa, M., Martins, S., Sartoratto, A., Ferreira, R., & Dupas, H. (2016). PHysical properties and morpHology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract. doi.org/10.1016/j.powtec.2016.03.007.
- Silva, C.; Ribeiro, A.; Figueiredo, M.; Ferreira, D. & Veiga, F. (2006). Microencapsulation of hemoglobin in chitosan-coated alginate microspHeres prepared by emulsification/internal gelation. *AAPS. J.* 7(4):1-11.

- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144–158.
- Soler Martínez, María. (2016). Diseño de escenarios para la obtención de preferencias declaradas. Universitat Jaume I. Departamento de matemáticas.
- Solís Orellana, C. S. (2016). *Comparación de dos materiales encapsulantes por el método de gelificación iónica normal e inversa*. (Tesis para optar el grado de Ingeniera en agroindustria alimentaria). Escuela Agrícola Panamericana, Carrera de agroindustria alimentaria. Honduras.
- Su Hung Ching, Nidhi Bansal & Bhesh Bhandari (2015): Alginate gel particles- a review of production techniques and physical properties, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: [10.1080/10408398.2014.965773](https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773).
- Tonon, R. V., Brabet, C. & Hubinger, M. D., (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice powder produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43: 907-914.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. *Food Chemistry*.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P. & Hubinger, M.D. (2009). Physicochemical and morphological characterization of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) produced with different carrier agents. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 1950- 1958.
- Urango, L.A., Montoya, G. A., Cuadros, M.A., Henao, D.C., Zapata, P. A., López, M. L., et al. (2009) Efecto de los compuestos bioactivos de algunos alimentos en la salud. *Perspect Nutr Humana*. 11:27-38.
- Valencia Sullca, Cristina E., & Guevara Pérez, Américo. (2013). Variación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos durante el procesamiento del néctar

- de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(2), 116-125.
- Vargas T., P., Castellanos R., J, Muñoz R., J., Sánchez G., P., Tijerina C., L., et al. (2008). Efecto de tamaño de partícula sobre algunas propiedades físicas del tezontle de Guanajuato, México. VI. 34Núm.3. México.
- Vasco, C., Ruales, J., & Afaf, K.E. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), p. 816-823.
- Villarroel O., L. A. (2015). *Elaboracion y evaluacion de microesferas mucoadhesivas preparadas a través de la técnica de gelificación iónica utilizando alginato de sódico y quitasano*. (Tesis para optar el grado de bioquímico farmacéutico). Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de ciencias. Riobamba- Ecuador.
- Vliet, T. (1988). Rheological properties of filled gels - influence of filler matrix interaction. *Colloid & Polymer Sci.* 266:518-524.
- Wu, C., Zhu, Y., Chang, J., Zhang, Y., & Xiao, Y. (2010). Bioactive inorganic materials/alginate composite microspheres with controllable drug-delivery ability. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 94B:32-43.
- You, J. O., Park, S. B., Park, H. Y., Haam, S., Chung, C. H., & Kim, W. S. (2001). Preparation of regular sized calcium-alginate microspheres using membrane emulsification method. *J Microencapsul.* 18:521-532.
- Zelada, E., Rene, C., Rivadeneira, C., y Laura, J. (2011). Máxima retención de ácido ascórbico y compuestos bioactivos, capacidad antioxidante en el néctar de tumbo. Ingeniería Industrial. Universidad de Lima. ISSN: 1025-9929.
- Zhang, J., Li, X., Zhang, D., & Xiu, Z. (2007). Theoretical and experimental investigations on the size of alginate microspheres prepared by dropping and spraying. Dalian University of Technology. *Department of Bioscience and Biotechnology, School of Environmental and Biological Science and Technology. China. DOI: 10.1080/02652040701339098.*

ANEXOS

Anexo 1. proceso de encapsulación del extracto de tumbo.



Recepción de tumbo



Extendido en las bandejas



Extracto de tumbo y subir pH



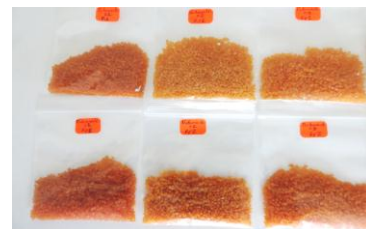
Homogenización de la mezcla



Secado



Esferificación



Colado



Anexo 2. Resultados de medidas biométricas del tumbo serrano.

MEDIDAS BIOMÉTRICAS EN 10 MUESTRAS			
N°muestra	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Peso (gr)
1	11.4	4.4	108.74
2	11.6	4.7	111.21
3	11	4	98.7
4	10.7	4	98.53
5	11.7	4.4	104.41
6	11.2	4.4	92.6
7	10.7	4	89.89
8	10	4.5	100.36
9	12.8	4.4	118.68
10	11.2	4.2	105.63
Promedio	11.23	4.3	102.88
DS	0.744	0.240	8.695

Anexo 3. Metodología de determinación de ácido ascórbico

Protocolo de determinación de ácido ascórbico

Reactivos:

1. Ácido oxálico al 0.4%: Pesar 4 g y llevar a 1000 mL con agua destilada.
2. Solución madre de ácido ascórbico 0.1 % en solución ácido oxálico: Pesar 100 mg de ácido ascórbico y llevar a volumen de 100 mL con una solución de ácido oxálico al 0.4%.
3. Solución de 2,6 dicloroindofenol: Pesar 12 mg de 2-6 DFIF, disolver y llevar a 1000 mL de volumen con agua destilada hirviendo. Almacenar en botella de color oscuro y en refrigeración.

Materiales y equipos:

1. Espectrofotómetro
2. Cubetas de espectrofotómetro
3. Fiolas de 1000, 250 y 100 mL
4. Tubos de ensayo
5. Micropipetas de 10 µl a 1000 l
6. Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 mL
7. Balanza analítica
8. Centrifuga
9. Licuadora

Preparación de la muestra

- Lavar la fruta (Tumbo).
- Quitar la cascara y despulpar con ayuda de una Licuadora (hasta romper los arilos del tumbo). Filtrar con un tamiz n° 2 mm.

Lectura de ácido ascórbico en espectrofotometría

MUESTRA
200 mL jugo



Centrifugar
4000 rpm x 15min



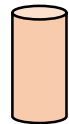
Filtrar a vacío
Con Papel de filtro (Nathmen N° 42)



3 mL de muestra
filtrada



Enrazar con ácido oxálico al
0.4%



Fiola de 100 mL



Tomar 4 tubos:

- I. 10 mL de agua destilada.
- II. 1 mL de ácido oxálico al 0.4% + 9 mL de 2,6 dicloroindofenol al 0.0012% (L1).
- III. 1 mL de muestra + 9 mL de agua destilada.
- IV. 1 mL de muestra + 9 mL de 2,6 dicloroindofenol al 0.0012 % (L2)



Calcular el L1 y L2
(lectura)

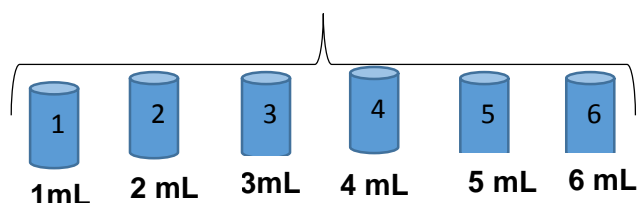
Lectura de la curva patrón de ácido ascórbico



25 mL de Solución madre
de ác. Ascórbico al 0.1%



Añadir a cada fiola de 100 mL las
diferentes concentraciones de Ac.
Ascórbico: 1, 2, 3, 4, 5 y 6.



Después enrasar a 100 mL con ácido oxálico
al 0.4 %



Posterior generar 4 tubos respectivos de cada
Fiola o concentración.

- I. 10 mL de agua destilada (Blanco 1).
- II. 1 mL de ácido oxálico al 0.4%+ 9 mL de 2,6 dicloroindofenol al 0.0012%
(Representa al L1).
- III. 1 mL de solución estándar fiola 1 (2, 3,4,5 y 6) + 9 mL de agua destilada
(Blanco 2).
- IV. 1 mL de solución estándar fiola 1 (2,3,4,5 y 6) + 9 mL de 2,6
dicloroindofenol al 0.0012 % (Representa al L2).

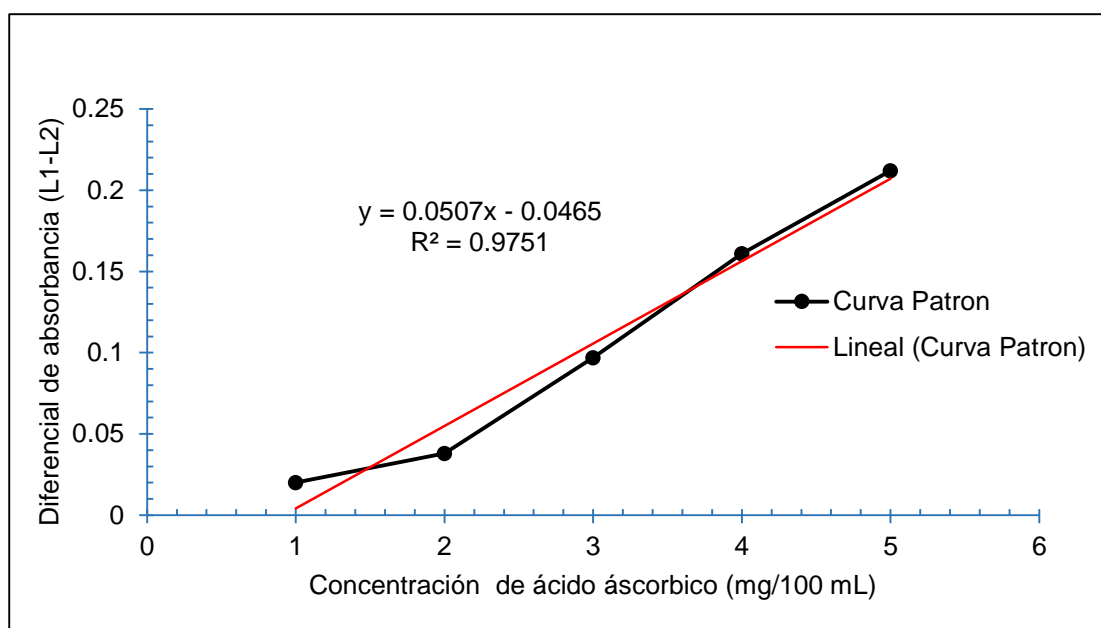


Calcular el L1 y L2
(Lectura)

Construcción de la curva estándar del ácido ascórbico

Para la determinación del contenido de ácido ascórbico en el extracto del tumbo, se utilizó la curva estándar que se muestra a continuación, que es la representación gráfica en un eje de coordenadas de la Absorbancia (eje de ordenadas) frente a la concentración de ácido ascórbico (eje de abscisas). Se trabajó con un R^2 de 0.9751.

DATOS DE LA CURVA ESTANDAR			
[] de ácido ascórbico (mL)	L1	L2	L1-L2
1	0.176	0.156	0.02
2	0.215	0.177	0.038
3	0.219	0.122	0.097
4	0.227	0.066	0.161
5	0.235	0.023	0.212



a	0.0507
b	0.0465
R²	0.9751

Calculo de ácido ascórbico del tumbo serrano

Datos de ácido ascórbico del tumbo serrano					
N°	L1 (Abs)	L2(Abs)	L1-L2	Concentración espectrofotometro (mg/100 mL)	mg ácido ascórbico/100g
2	0.216	0.157	0.059	2.081	69.4
3	0.219	0.159	0.060	2.101	70.0



Ilustración 1. Lectura de ácido ascórbico en espectrofotometría.

Anexo 3. Metodología para la cuantificación de fenoles totales

protocolo para la determinación de fenoles totales

Reactivos:

1. Ácido gálico: Pesar 0.1 g y llevar a 1000 mL con agua destilada.
2. Folin Ciocalteu 2 N: 1mL de Folin más 5 mL de agua destilada (1:5).
3. Carbonato de sodio al 10%: Pesar 10 g de carbonato de sodio, disolver y llevar a 50 mL de volumen con agua destilada.
4. Metanol 80 %

Preparación del extracto metanólico en extracto de tumbo (1) y cápsula (2)

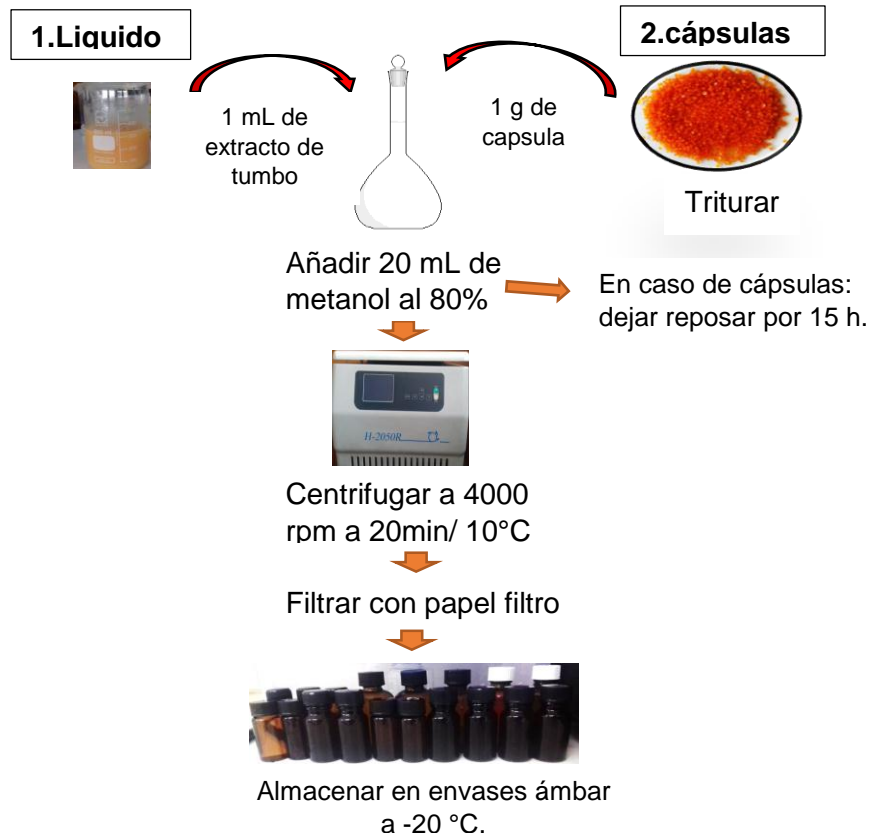
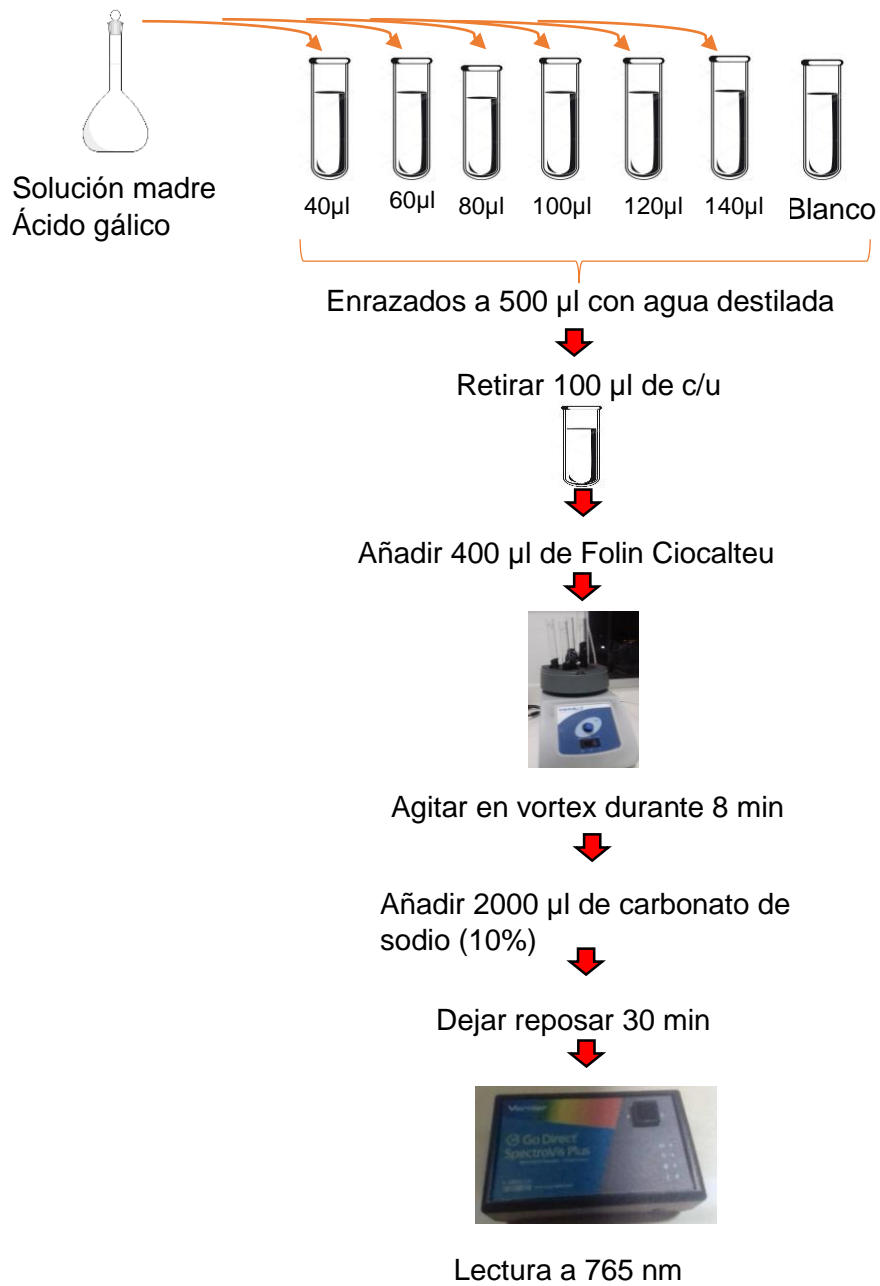


Ilustración 2. Equipo para filtrar el extracto fenólico

Preparación de curva estándar con ácido gálico



Construcción de la curva estándar del ácido ascórbico

Para la determinación del contenido de ácido ascórbico en el extracto del tumbo, se utilizó la curva estándar que se muestra a continuación, que es la representación gráfica en un eje de coordenadas de la Absorbancia (eje de ordenadas) frente a la concentración de ácido ascórbico (eje de abscisas). Se trabajó con un R^2 de 0.9751.

n° Tubos	Solución de ácido gálico (mL)	Agua destilada (mL)	Reactivo Folin (μ L)	Solución Na_2CO_3 (μ L)	ABS 1	ASB 2	Promedio	SD
Blanco	0	0.5	250	1250	0.002	0.002	0.002	0.000
1	0.04	0.46	250	1250	0.31	0.278	0.294	0.023
2	0.06	0.44	250	1250	0.448	0.438	0.443	0.007
3	0.08	0.42	250	1250	0.653	0.643	0.648	0.007
4	0.1	0.4	250	1250	0.785	0.783	0.784	0.001
5	0.12	0.38	250	1250	0.968	0.938	0.953	0.021
6	0.14	0.36	250	1250	1.097	1.082	1.0895	0.011

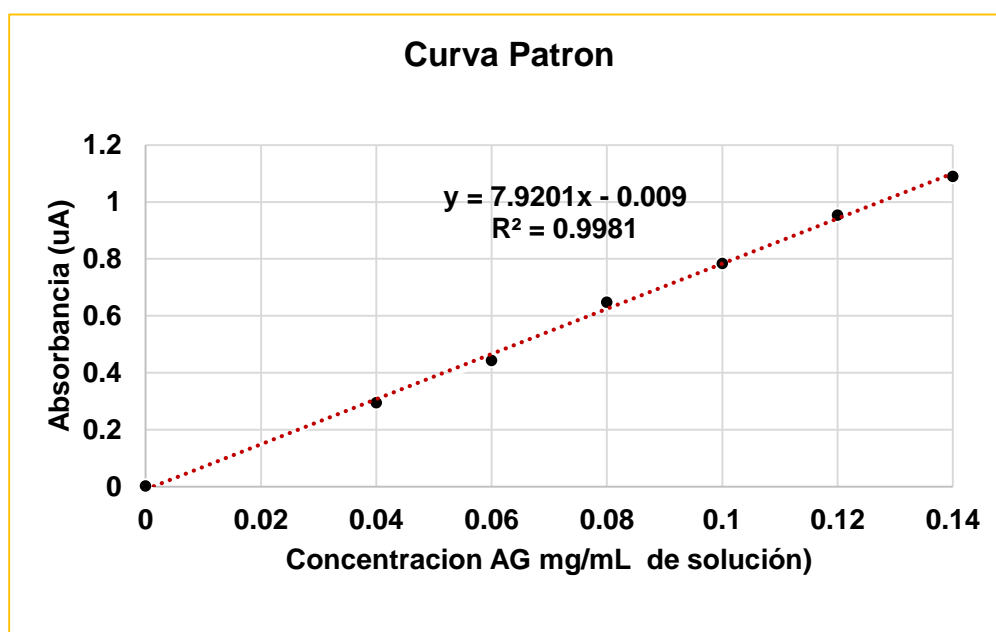
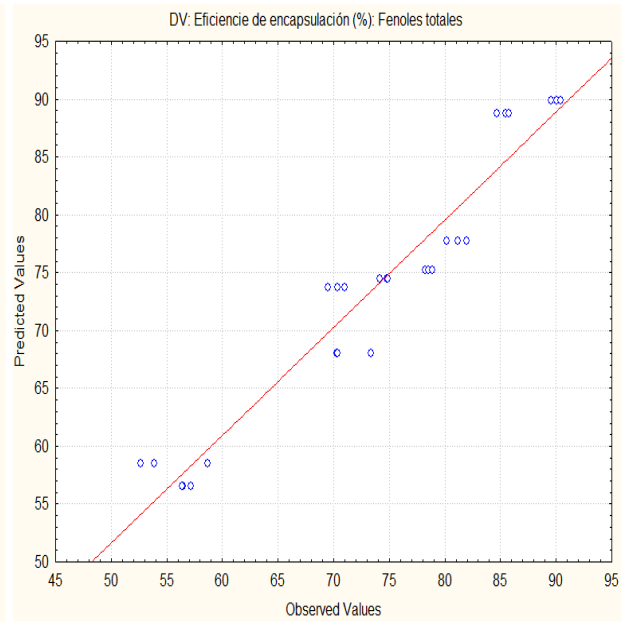
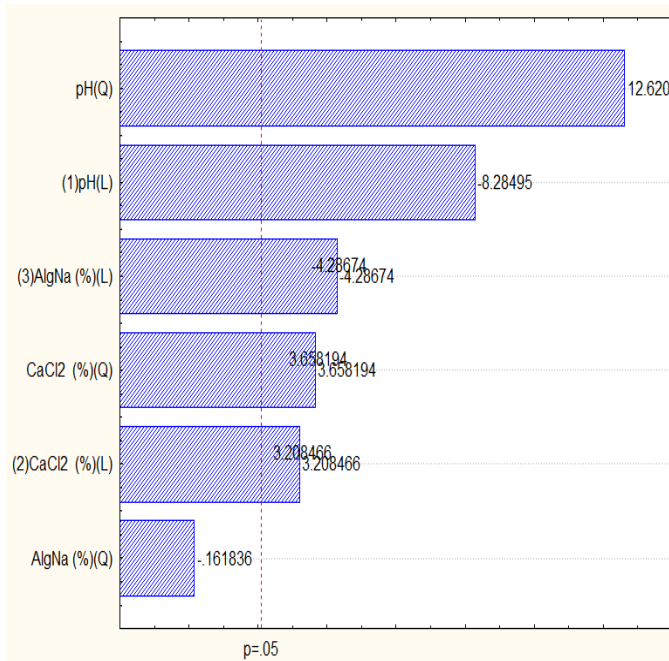


Ilustración 3. Curva patrón de fenoles totales.

Anexo 4. Resultados con 2 réplicas, tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de fenoles totales.

n°	Réplica	Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Fenoles totales (mg EAG/100 g)	Eficiencia de encapsulación (%)
1	1	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	1505.66	70
2	1	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	1600.36	75
3	1	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	1674.22	78
4	1	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	1736.72	81
5	1	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	1812.48	85
6	1	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	1916.64	90
7	1	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	1208.32	56
8	1	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	1503.77	70
9	1	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	1126.88	53
10	2	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	1486.72	69
11	2	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	1587.10	74
12	2	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	1679.90	78
13	2	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	1753.77	82
14	2	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	1829.52	85
15	2	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	1928.01	90
16	2	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	1206.42	56
17	2	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	1570.06	73
18	2	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	1255.67	59
19	3	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	1518.92	71
20	3	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	1602.25	75
21	3	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	1681.80	79
22	3	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	1715.89	80
23	3	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	1835.20	86
24	3	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	1935.58	90
25	3	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	1223.47	57
26	3	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	1505.66	70
27	3	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	1153.39	54

(%); R-sqr=.93103; Adj:.91035 Eficiencia de encapsulación (%): Fenoles totales										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	73.6551	0.662381	111.1975	0.000000	72.2734	75.0368	73.65509	0.662381	72.27338	75.03679
(1)pH (L)	-13.4423	1.622494	-8.2849	0.000000	-16.8267	-10.0578	-6.72114	0.811247	-8.41337	-5.02891
pH (Q)	17.7336	1.405121	12.6207	0.000000	14.8026	20.6646	8.86680	0.702561	7.40129	10.33232
(2)CaCl2 (%) (L)	5.2057	1.622494	3.2085	0.004410	1.8213	8.5902	2.60286	0.811247	0.91063	4.29509
CaCl2 (%) (Q)	-5.1402	1.405121	-3.6582	0.001562	-2.2092	-8.0712	2.57010	0.702561	1.10459	4.03562
(3)AlgNa (%) (L)	-6.9552	1.622494	-4.2867	0.000360	-10.3397	-3.5707	-3.47760	0.811247	-5.16984	-1.78537
AlgNa (%) (Q)	-0.2274	1.405121	-0.1618	0.873059	-3.1584	2.7036	-0.11370	0.702561	-1.57922	1.35182

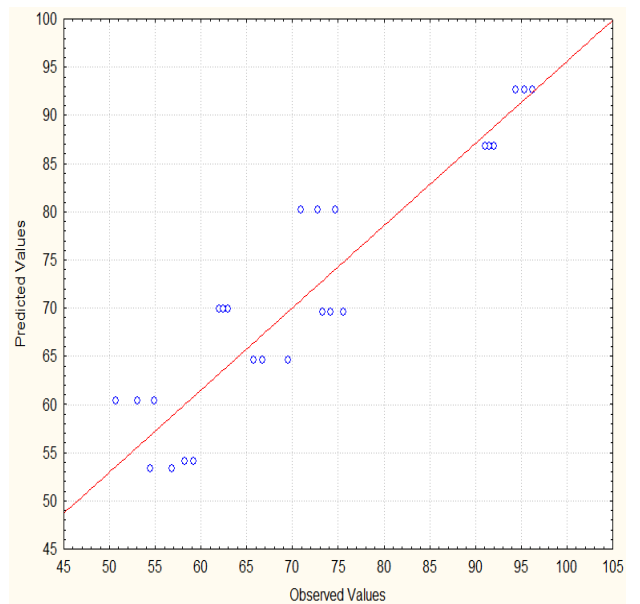
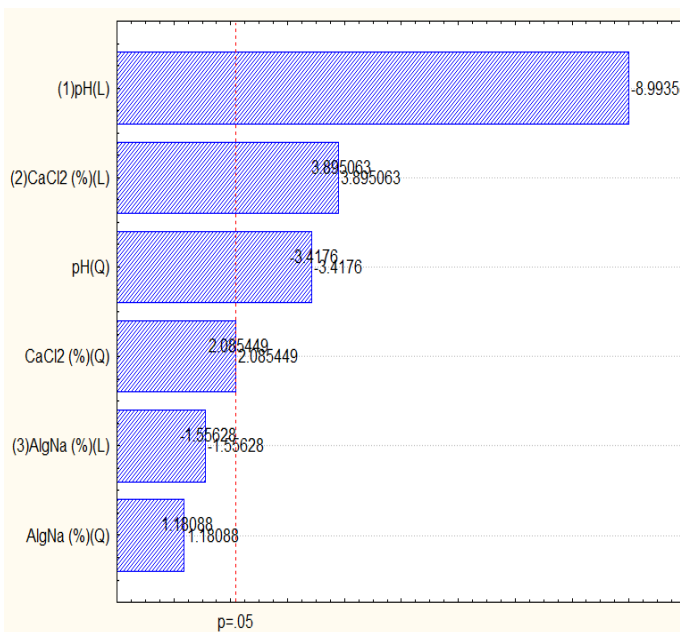


Regr. Coefficients; Var.:Eficiencia de encapsulación (%); R-sqr=						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-174.026	42.30971	-4.1131	0.000540	-262.283	-85.7696
(1)pH (L)	82.217	6.89074	11.9315	0.000000	67.843	96.5907
pH (Q)	-7.882	0.62450	-12.6207	0.000000	-9.184	-6.5789
(2)CaCl2 (%) (L)	38.584	9.86925	3.9095	0.000869	17.997	59.1712
CaCl2 (%) (Q)	-5.140	1.40512	-3.6582	0.001562	-8.071	-2.2092
(3)AlgNa (%) (L)	-19.172	46.91537	-0.4087	0.687138	-117.036	78.6917
AlgNa (%) (Q)	2.527	15.61246	0.1618	0.873059	-30.040	35.0937

Anexo 5. Resultados con 2 réplicas, tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de ácido ascórbico.

n°	Réplica	Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	ácido ascórbico (mg/100g)	Eficiencia de encapsulación (%)
1	1	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	52.268	75
2	1	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	64.431	92
3	1	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	66.075	94
4	1	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	38.133	54
5	1	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	43.393	62
6	1	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	51.940	74
7	1	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	40.763	58
8	1	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	46.680	67
9	1	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	38.462	55
10	2	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	49.638	71
11	2	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	64.070	92
12	2	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	66.732	95
13	2	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	39.776	57
14	2	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	44.050	63
15	2	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	51.282	73
16	2	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	41.420	59
17	2	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	46.022	66
18	2	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	37.147	53
19	3	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	50.953	73
20	3	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	63.774	91
21	3	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	67.390	96
22	3	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	39.776	57
23	3	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	43.721	62
24	3	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	52.926	76
25	3	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	41.420	59
26	3	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	48.652	70
27	3	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	35.503	51

Effect Estimates; Var.:Eficiencia encapsulación (%); R-sqr=.85283; Adj.: 80868 (3**(3-1) fractional factoria 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=40.16 DV: Eficiencia encapsulación (%): Ácido ascórbico										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	70.1797	1.219593	57.54357	0.000000	67.6357	72.7238	70.1797	1.219593	67.6357	72.7238
(1)pH (L)	-26.8672	2.987381	-8.99358	0.000000	-33.0988	-20.6357	-13.4336	1.493690	-16.5494	-10.3178
pH (Q)	-8.8418	2.587148	-3.41760	0.002728	-14.2385	-3.4451	-4.4209	1.293574	-7.1193	-1.7226
(2)CaCl2 (%) (L)	11.6360	2.987381	3.89506	0.000899	5.4045	17.8676	5.8180	1.493690	2.7022	8.9338
CaCl2 (%) (Q)	5.3954	2.587148	2.08545	0.050051	-0.0013	10.7921	2.6977	1.293574	-0.0007	5.3960
(3)AlgNa (%) (L)	-4.6492	2.987381	-1.55628	0.135325	-10.8808	1.5824	-2.3246	1.493690	-5.4404	0.7912
AlgNa (%) (Q)	3.0551	2.587148	1.18088	0.251504	-2.3416	8.4518	1.5276	1.293574	-1.1708	4.2259



Regr. Coefficients; ; R-sqr=.85283; Adj.: 80868 (3**(3-1) fractiona 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=40.16 DV: Eficiencia encapsulación (%): Ácido ascórbico						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	86.8378	77.90179	1.11471	0.278192	-75.6625	249.3381
(1)pH (L)	-52.1824	12.68742	-4.11293	0.000540	-78.6479	-25.7170
pH (Q)	3.9297	1.14984	3.41760	0.002728	1.5312	6.3282
(2)CaCl2 (%) (L)	43.5856	18.17153	2.39856	0.026328	5.6804	81.4907
CaCl2 (%) (Q)	-5.3954	2.58715	-2.08545	0.050051	-10.7921	0.0013
(3)AlgNa (%) (L)	94.0884	86.38187	1.08921	0.289010	-86.1010	274.2778
AlgNa (%) (Q)	-33.9457	28.74608	-1.18088	0.251504	-93.9090	26.0176

Anexo 6. Resultados de propiedades fisicoquímicas de cápsulas con 2 réplicas

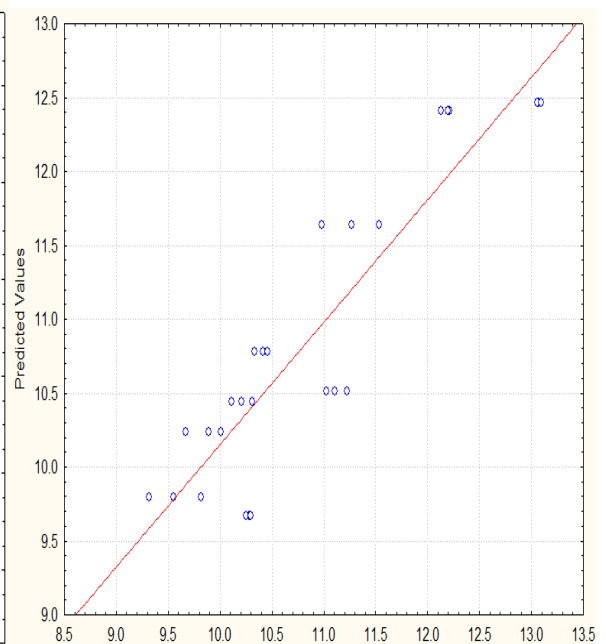
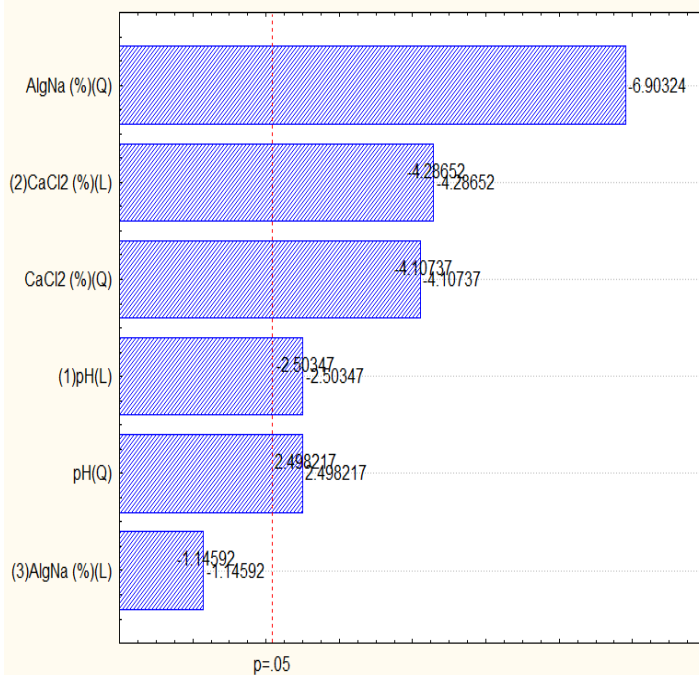
n°	Réplica	Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Humedad (%)	AW	Higroscopicidad (%)
1	1	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	13.08	0.53	25.934
2	1	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	10.34	0.44	25.299
3	1	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	9.82	0.43	20.787
4	1	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	12.21	0.40	28.385
5	1	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	10.28	0.36	22.892
6	1	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	11.27	0.38	25.424
7	1	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	10.01	0.36	22.845
8	1	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	10.21	0.38	24.514
9	1	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	11.11	0.39	32.406
10	2	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	13.06	0.54	25.241
11	2	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	10.42	0.45	25.582
12	2	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	9.55	0.43	20.626
13	2	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	12.20	0.39	28.622
14	2	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	10.26	0.36	23.531
15	2	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	11.54	0.38	25.990
16	2	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	9.90	0.36	23.169
17	2	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	10.32	0.37	24.460
18	2	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	11.23	0.39	32.907
19	3	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	13.10	0.54	25.700
20	3	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	10.46	0.43	25.027
21	3	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	9.32	0.42	20.668
22	3	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	12.13	0.40	28.005
23	3	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	10.30	0.37	22.230
24	3	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	10.98	0.38	25.329
25	3	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	9.67	0.36	23.673
26	3	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	10.12	0.37	24.830
27	3	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	11.03	0.39	32.474



Ilustración 4. Equipos para determinar humedad y Aw.

Anexo 6.1. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de la humedad de las cápsulas

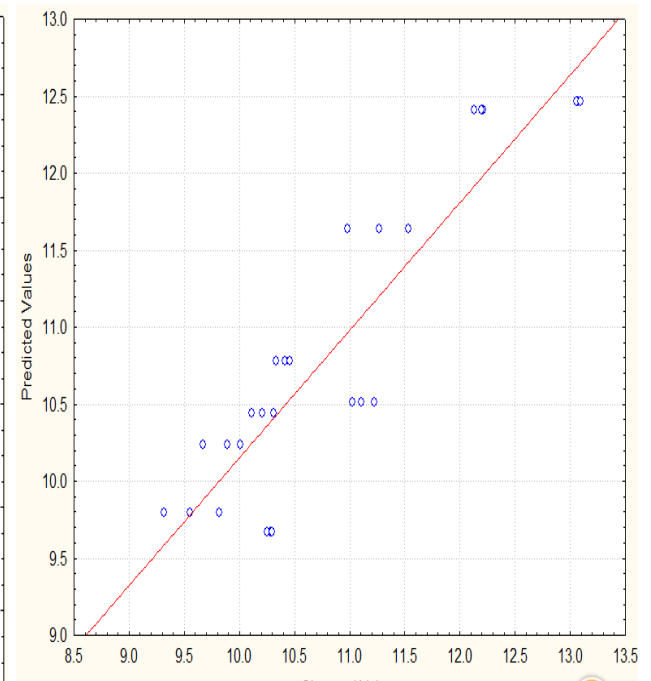
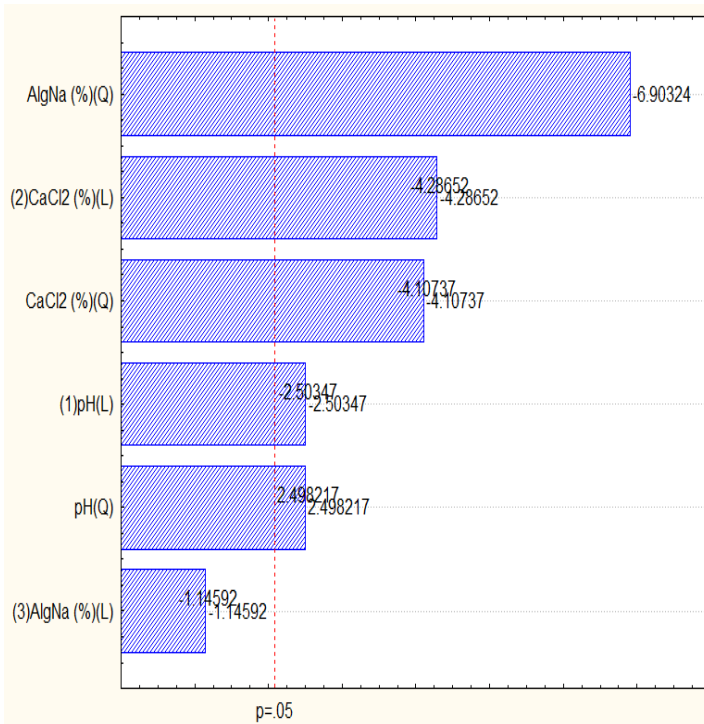
Effect Estimates; Var.:Humedad (%); R-sqr=.82865; Adj:.77725 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 bloc 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.2740265 DV: Humedad (%)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	10.88296	0.100743	108.0271	0.000000	10.67282	11.09311	10.88296	0.100743	10.67282	11.09311
(1)pH (L)	-0.61778	0.246769	-2.5035	0.021077	-1.13253	-0.10303	-0.30889	0.123384	-0.56626	-0.05151
pH (Q)	0.53389	0.213708	2.4982	0.021315	0.08810	0.97968	0.26694	0.106854	0.04405	0.48984
(2)CaCl2 (%) (L)	-1.05778	0.246769	-4.2865	0.000360	-1.57253	-0.54303	-0.52889	0.123384	-0.78626	-0.27151
CaCl2 (%) (Q)	-0.87778	0.213708	-4.1074	0.000547	-1.32356	-0.43199	-0.43889	0.106854	-0.66178	-0.21600
(3)AlgNa (%) (L)	-0.28278	0.246769	-1.1459	0.265354	-0.79753	0.23197	-0.14139	0.123384	-0.39876	0.11599
AlgNa (%) (Q)	-1.47528	0.213708	-6.9032	0.000001	-1.92106	-1.02949	-0.73764	0.106854	-0.96053	-0.51475



Regr. Coefficients; Var.:Humedad (%); R-sqr=.82865; Adj:.77725 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.2740265 DV: Humedad (%)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	53.8177	6.434975	8.36331	0.000000	40.3946	67.2408
(1)pH (L)	2.4042	1.048027	2.29402	0.032751	0.2181	4.5903
pH (Q)	-0.2373	0.094981	-2.49822	0.021315	-0.4354	-0.0392
(2)CaCl2 (%) (L)	-6.6733	1.501035	-4.44582	0.000248	-9.8044	-3.5422
CaCl2 (%) (Q)	0.8778	0.213708	4.10737	0.000547	0.4320	1.3236
(3)AlgNa (%) (L)	-49.6472	7.135461	-6.95782	0.000001	-64.5315	-34.7629
AlgNa (%) (Q)	16.3920	2.374533	6.90324	0.000001	11.4388	21.3452

Anexo 6.1. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de Aw de las cápsulas

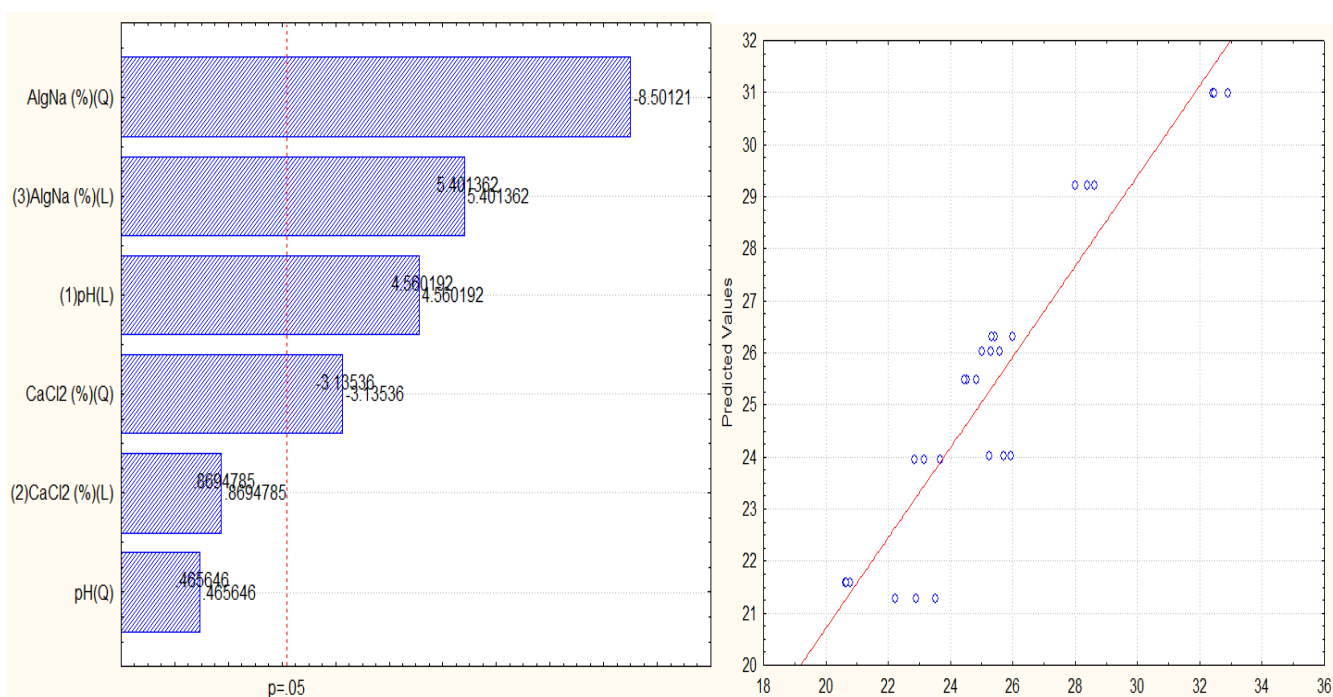
Effect Estimates; Var.:Aw; R-sqr=.90498; Adj: .87648 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 block , 9 runs (Spread 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0003597 DV: Aw										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.407741	0.003650	111.7074	0.000000	0.400127	0.415355	0.407741	0.003650	0.400127	0.415355
(1)pH (L)	-0.093222	0.008941	-10.4266	0.000000	-0.111872	-0.074572	-0.046611	0.004470	-0.055936	-0.037286
pH (Q)	-0.042611	0.007743	-5.5032	0.000022	-0.058763	-0.026460	-0.021306	0.003871	-0.029381	-0.013230
(2)CaCl2 (%) (L)	-0.031389	0.008941	-3.5107	0.002200	-0.050039	-0.012739	-0.015694	0.004470	-0.025020	-0.006369
CaCl2 (%) (Q)	-0.024694	0.007743	-3.1893	0.004608	-0.040846	-0.008543	-0.012347	0.003871	-0.020423	-0.004271
(3)AlgNa (%) (L)	-0.021556	0.008941	-2.4109	0.025652	-0.040206	-0.002905	-0.010778	0.004470	-0.020103	-0.001453
AlgNa (%) (Q)	-0.037278	0.007743	-4.8144	0.000105	-0.053429	-0.021126	-0.018639	0.003871	-0.026715	-0.010563



Regr. Coefficients; Var.:Aw; R-sqr=.90498; Adj: .87648 (3**(3-1) fr 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0003597 DV: Aw						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	2.42508	0.233150	10.40139	0.000000	1.93874	2.911421
(1)pH (L)	-0.23940	0.037972	-6.30456	0.000004	-0.31860	-0.160187
pH (Q)	0.01894	0.003441	5.50319	0.000022	0.01176	0.026117
(2)CaCl2 (%) (L)	-0.18856	0.054385	-3.46705	0.002434	-0.30200	-0.075111
CaCl2 (%) (Q)	0.02469	0.007743	3.18927	0.004608	0.00854	0.040846
(3)AlgNa (%) (L)	-1.27852	0.258529	-4.94535	0.000078	-1.81780	-0.739236
AlgNa (%) (Q)	0.41420	0.086033	4.81439	0.000105	0.23474	0.593660

Anexo 6.3. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de la higroscopicidad de las cápsulas

Effect Estimates; Var.:Higroscopicidad (%); R-sqr=.86932; Adj. 83011 (3**(3-1) fractional factorial design, 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=1.863831 DV: Higroscopicidad (%)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	25.42782	0.262737	96.78046	0.000000	24.87976	25.97588	25.42782	0.262737	24.87976	25.97588
(1)pH (L)	2.93481	0.643572	4.56019	0.000190	1.59234	4.27728	1.46741	0.321786	0.79617	2.13864
pH (Q)	0.25953	0.557350	0.46565	0.646500	-0.90308	1.42214	0.12976	0.278675	-0.45154	0.71107
(2)CaCl2 (%) (L)	0.55957	0.643572	0.86948	0.394901	-0.78290	1.90204	0.27979	0.321786	-0.39145	0.95102
CaCl2 (%) (Q)	-1.74749	0.557350	-3.13536	0.005209	-2.91010	-0.58488	-0.87375	0.278675	-1.45505	-0.29244
(3)AlgNa (%) (L)	3.47616	0.643572	5.40136	0.000028	2.13370	4.81863	1.73808	0.321786	1.06685	2.40932
AlgNa (%) (Q)	-4.73815	0.557350	-8.50121	0.000000	-5.90076	-3.57554	-2.36907	0.278675	-2.95038	-1.78777



Regr. Coefficients; Var.:Higroscopicidad (%); R-sqr=.86932; Adj. 83011 (3**(3-1) fractional factorial design, 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=1.863831 DV: Higroscopicidad (%)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	142.598	16.78239	8.49689	0.000000	107.591	177.606
(1)pH (L)	2.247	2.73325	0.82212	0.420700	-3.454	7.949
pH (Q)	-0.115	0.24771	-0.46565	0.646500	-0.632	0.401
(2)CaCl2 (%) (L)	-11.953	3.91469	-3.05328	0.006275	-20.119	-3.787
CaCl2 (%) (Q)	1.747	0.55735	3.13536	0.005209	0.585	2.910
(3)AlgNa (%) (L)	-152.145	18.60926	-8.17575	0.000000	-190.963	-113.326
AlgNa (%) (Q)	52.646	6.19277	8.50121	0.000000	39.728	65.564

Anexo 7. Resultados de parámetros de color de las cápsulas con 2 réplicas

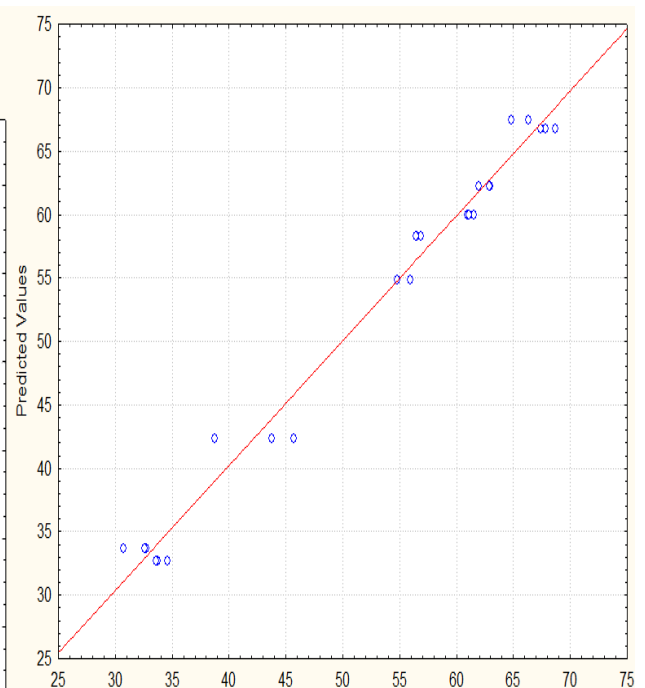
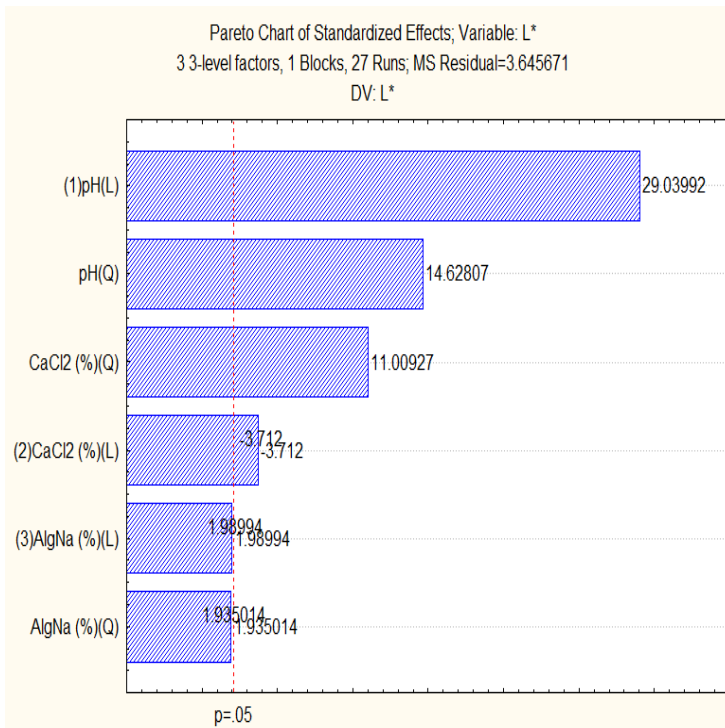
n°	Réplica	Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Parámetros de color				
						L*	a*	b*	Chroma (C*)	Hue (H*)
1	1	T1	4 (-1)	2.5 (1)	1.2 (-1)	32.73	56.855	72.46	92.10	51.61
2	1	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	45.73	36.9	73.18	81.96	62.04
3	1	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	34.61	52.845	66.025	84.57	52.56
4	1	T4	5.5(0)	2.5 (1)	1.8 (1)	61.55	17.055	31.815	36.10	61.43
5	1	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	66.32	15.98	25.91	30.44	58.66
6	1	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	55.95	23.995	36.83	43.96	56.47
7	1	T7	7 (1)	2.5 (1)	1.5 (0)	62.96	5.695	11.045	12.43	61.73
8	1	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	68.70	4.01	8.445	9.35	65.08
9	1	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	56.55	7.555	13.455	15.43	56.62
10	2	T1	4 (-1)	2.5 (1)	1.2 (-1)	32.61	57.145	71.28	91.36	51.33
11	2	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	43.78	36.41	73.31	81.85	61.08
12	2	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	33.77	56.9	67.39	88.20	52.18
13	2	T4	5.5(0)	2.5 (1)	1.8 (1)	60.97	18.915	32.75	37.82	60.69
14	2	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	66.30	16.44	27.08	31.68	59.13
15	2	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	54.80	24.75	37.205	44.69	57.69
16	2	T7	7 (1)	2.5 (1)	1.5 (0)	62.91	6.63	11.765	13.50	61.53
17	2	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	67.81	4.1	9.065	9.95	65.95
18	2	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	56.87	7.13	13.135	14.95	60.78
19	3	T1	4 (-1)	2.5 (1)	1.2 (-1)	30.73	58.91	69.99	91.48	49.85
20	3	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	38.79	49.96	74.23	89.48	56.21
21	3	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	33.62	60.32	67.78	90.73	51.99
22	3	T4	5.5(0)	2.5 (1)	1.8 (1)	61.07	19.66	32.705	38.16	60.59
23	3	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	64.82	16.58	26.685	31.42	58.87
24	3	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	54.83	24.08	36.37	43.62	56.14
25	3	T7	7 (1)	2.5 (1)	1.5 (0)	61.96	6.62	11.5	13.27	60.08
26	3	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	67.44	4.56	9.915	10.91	65.79
27	3	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	56.42	7.16	14.31	16.00	63.42



Ilustración 5. Medición de color de cápsulas con colorímetro.

Anexo 7.1. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto del L* de las cápsulas

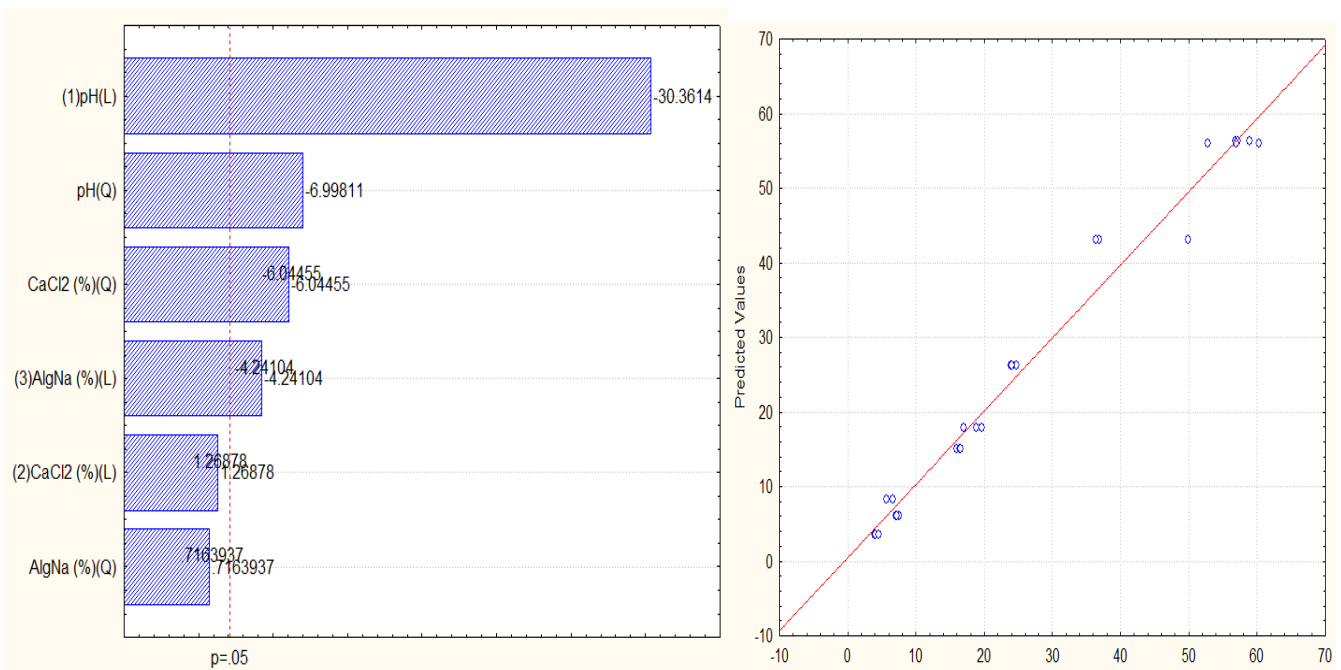
Effect Estimates; Var.:L*; R-sqr=.98361; Adj.:97869 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 block , 9 runs (3 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=3.645671 DV: L*										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	53.13111	0.367457	144.5913	0.000000	52.36461	53.89761	53.13111	0.367457	52.36461	53.89761
(1)pH (L)	26.13833	0.900083	29.0399	0.000000	24.26079	28.01587	13.06917	0.450041	12.13040	14.00794
pH (Q)	11.40250	0.779495	14.6281	0.000000	9.77650	13.02850	5.70125	0.389747	4.88825	6.51425
(2)CaCl2 (%) (L)	-3.34111	0.900083	-3.7120	0.001378	-5.21865	-1.46357	-1.67056	0.450041	-2.60933	-0.73179
CaCl2 (%) (Q)	8.58167	0.779495	11.0093	0.000000	6.95567	10.20766	4.29083	0.389747	3.47783	5.10383
(3)AlgNa (%) (L)	1.79111	0.900083	1.9899	0.060445	-0.08643	3.66865	0.89556	0.450041	-0.04321	1.83433
AlgNa (%) (Q)	1.50833	0.779495	1.9350	0.067258	-0.11766	3.13433	0.75417	0.389747	-0.05883	1.56717



Regr. Coefficients; Var.:L*; R-sqr=.98361; Adj.:97869 (3**(3-1) fr 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=3.645671 DV: L*						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-275.226	23.47142	-11.7260	0.000000	-324.186	-226.265
(1)pH (L)	64.458	3.82265	16.8622	0.000000	56.484	72.432
pH (Q)	-5.068	0.34644	-14.6281	0.000000	-5.790	-4.345
(2)CaCl2 (%) (L)	58.401	5.47499	10.6669	0.000000	46.980	69.822
CaCl2 (%) (Q)	-8.582	0.77949	-11.0093	0.000000	-10.208	-6.956
(3)AlgNa (%) (L)	53.263	26.02642	2.0465	0.054079	-1.027	107.553
AlgNa (%) (Q)	-16.759	8.66105	-1.9350	0.067258	-34.826	1.307

Anexo 7.2. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto del a* de las cápsulas

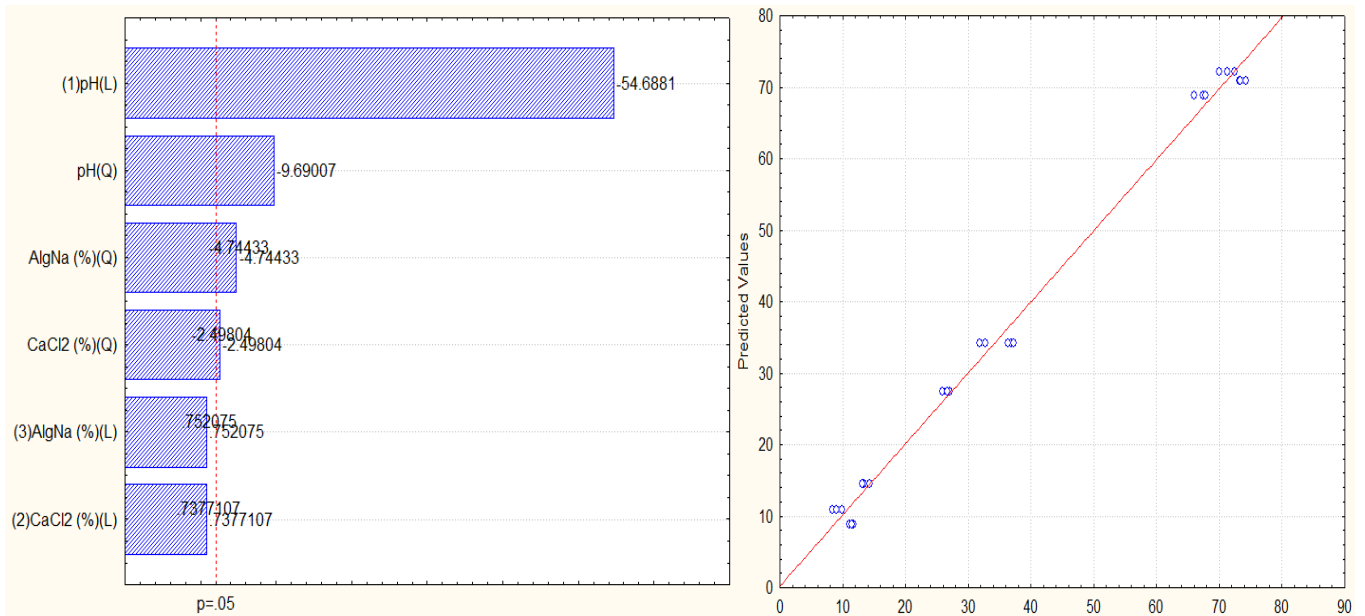
Effect Estimates; Var.:a*; R-sqr=.98091; Adj.:97518 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 block , 9 runs (3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=10.26911 DV: a*										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt
Mean/Interc.	25.8207	0.616715	41.8682	0.000000	24.5343	27.1072	25.8207	0.616715	24.5343	27.1072
(1)pH (L)	-45.8650	1.510637	-30.3614	0.000000	-49.0161	-42.7139	-22.9325	0.755319	-24.5081	-21.3569
pH (Q)	-9.1553	1.308250	-6.9981	0.000001	-11.8842	-6.4263	-4.5776	0.654125	-5.9421	-3.2132
(2)CaCl2 (%) (L)	1.9167	1.510637	1.2688	0.219088	-1.2345	5.0678	0.9583	0.755319	-0.6172	2.5339
CaCl2 (%) (Q)	-7.9078	1.308250	-6.0445	0.000007	-10.6367	-5.1788	-3.9539	0.654125	-5.3184	-2.5894
(3)AlgNa (%) (L)	-6.4067	1.510637	-4.2410	0.000400	-9.5578	-3.2555	-3.2033	0.755319	-4.7789	-1.6278
AlgNa (%) (Q)	0.9372	1.308250	0.7164	0.482031	-1.7917	3.6662	0.4686	0.654125	-0.8959	1.8331



Regr. Coefficients; Var.:a*; R-sqr=.98091; Adj.:97518 (3**(3-1) fr 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=10.26911 DV: a*						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt
Mean/Interc.	308.3459	39.39282	7.82746	0.000000	226.1739	390.5178
(1)pH (L)	-60.0475	6.41568	-9.35948	0.000000	-73.4303	-46.6646
pH (Q)	4.0690	0.58144	6.99811	0.000001	2.8561	5.2819
(2)CaCl2 (%) (L)	-54.3961	9.18885	-5.91980	0.000009	-73.5637	-35.2285
CaCl2 (%) (Q)	7.9078	1.30825	6.04455	0.000007	5.1788	10.6367
(3)AlgNa (%) (L)	20.5630	43.68096	0.47075	0.642910	-70.5539	111.6799
AlgNa (%) (Q)	-10.4136	14.53611	-0.71639	0.482031	-40.7354	19.9082

Anexo 7.3. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto del b* de las cápsulas

Effect Estimates; Var.:b*; R-sqr=.99362; Adj.:.99171 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 block , 9 runs (3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=5.277316 DV: b*										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	37.9863	0.442104	85.9216	0.000000	37.0641	38.9085	37.9863	0.442104	37.0641	38.9085
(1)pH (L)	-59.2233	1.082930	-54.6881	0.000000	-61.4823	-56.9644	-29.6117	0.541465	-30.7411	-28.4822
pH (Q)	-9.0878	0.937845	-9.6901	0.000000	-11.0441	-7.1315	-4.5439	0.468922	-5.5220	-3.5657
(2)CaCl2 (%) (L)	0.7989	1.082930	0.7377	0.469258	-1.4601	3.0578	0.3994	0.541465	-0.7300	1.5289
CaCl2 (%) (Q)	-2.3428	0.937845	-2.4980	0.021322	-4.2991	-0.3865	-1.1714	0.468922	-2.1495	-0.1932
(3)AlgNa (%) (L)	0.8144	1.082930	0.7521	0.460766	-1.4445	3.0734	0.4072	0.541465	-0.7223	1.5367
AlgNa (%) (Q)	-4.4494	0.937845	-4.7443	0.000124	-6.4058	-2.4931	-2.2247	0.468922	-3.2029	-1.2466



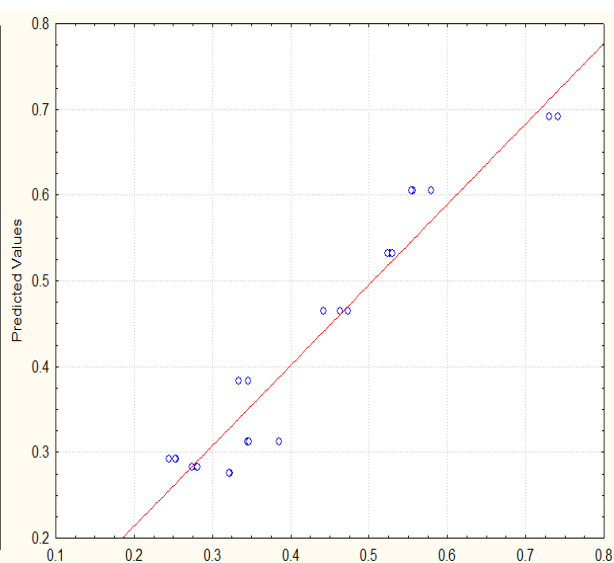
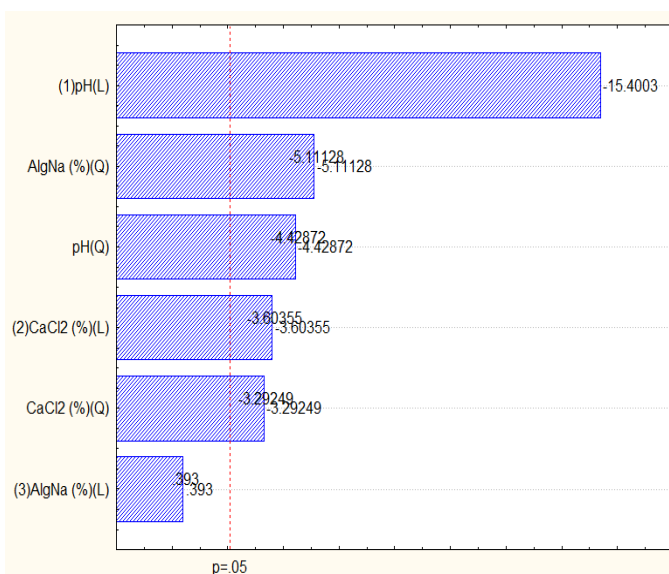
Regr. Coefficients; Var.:b*; R-sqr=.99362; Adj.:.99171 (3**(3-1) fr 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=5.277316 DV: b*						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	394.657	28.23951	13.9753	0.000000	335.750	453.5634
(1)pH (L)	-64.170	4.59921	-13.9525	0.000000	-73.764	-54.5765
pH (Q)	4.039	0.41682	9.6901	0.000000	3.170	4.9085
(2)CaCl2 (%) (L)	-16.000	6.58720	-2.4290	0.024694	-29.741	-2.2593
CaCl2 (%) (Q)	2.343	0.93784	2.4980	0.021322	0.386	4.2991
(3)AlgNa (%) (L)	-146.957	31.31355	-4.6931	0.000140	-212.276	-81.6385
AlgNa (%) (Q)	49.438	10.42050	4.7443	0.000124	27.701	71.1750

Anexo 8. Resultados de propiedades de flujo y solubilidad de las cápsulas con 2 réplicas

n°	Réplica	Tratamientos	pH	CaCl ₂ (%)	AlgNa (%)	Densidad aparente (g/cm ³)	Densidad compacta (g/cm ³)	Solubilidad (%)
1	1	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	0.742	0.789	9.38
2	1	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	0.580	0.733	32.55
3	1	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	0.527	0.628	19.72
4	1	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	0.464	0.510	13.24
5	1	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	0.323	0.345	32.30
6	1	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	0.346	0.401	26.79
7	1	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	0.254	0.299	37.42
8	1	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	0.280	0.296	30.36
9	1	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	0.385	0.417	28.03
10	2	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	0.741	0.788	11.20
11	2	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	0.556	0.721	29.67
12	2	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	0.524	0.626	16.95
13	2	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	0.474	0.522	13.63
14	2	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	0.322	0.344	33.12
15	2	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	0.346	0.401	23.65
16	2	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	0.253	0.302	36.76
17	2	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	0.281	0.297	31.39
18	2	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	0.345	0.370	28.98
19	3	T1	4 (-1)	2.5 (-1)	1.2 (-1)	0.730	0.775	11.67
20	3	T2	4 (-1)	3.5 (0)	1.8 (1)	0.554	0.718	32.52
21	3	T3	4 (-1)	4.5 (1)	1.5 (0)	0.530	0.624	19.38
22	3	T4	5.5(0)	2.5 (-1)	1.8 (1)	0.442	0.484	11.54
23	3	T5	5.5(0)	3.5 (0)	1.5 (0)	0.321	0.344	33.17
24	3	T6	5.5(0)	4.5 (1)	1.2 (-1)	0.334	0.385	26.29
25	3	T7	7 (1)	2.5 (-1)	1.5 (0)	0.245	0.295	37.62
26	3	T8	7 (1)	3.5 (0)	1.2 (-1)	0.274	0.290	30.38
27	3	T9	7 (1)	4.5 (1)	1.8 (1)	0.347	0.372	26.06

Anexo 8.1. Tabla de coeficiente de regresión, estimación de efectos y Pareto de densidad aparente de las cápsulas

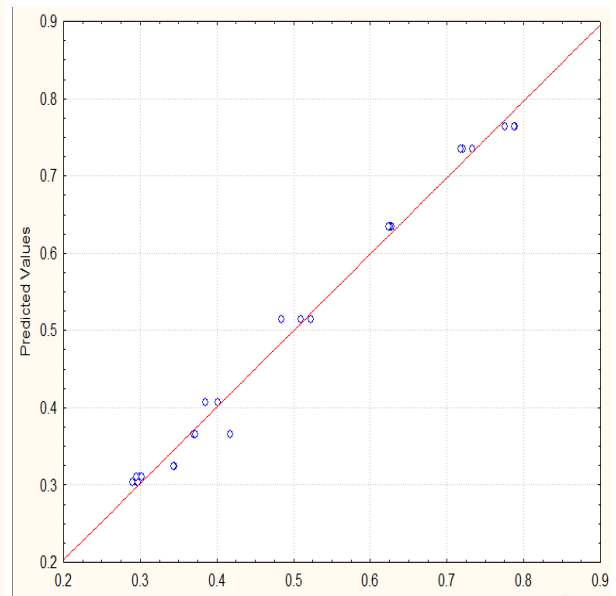
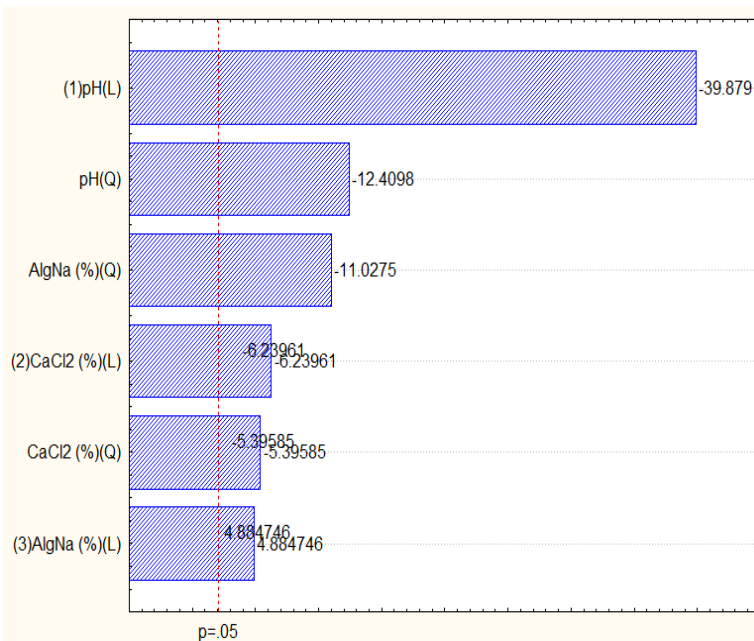
Effect Estimates; Var.:Densidad aparente (g/cm ³); R-sqr= .93882; Adj.:.92046 (3**(3-1) fractional factorial design, 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0018638 DV: Densidad aparente (g/cm ³)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.426582	0.008309	51.3427	0.000000	0.409250	0.443913	0.426582	0.008309	0.409250	0.443913
(1)pH (L)	-0.313421	0.020352	-15.4003	0.000000	-0.355873	-0.270968	-0.156710	0.010176	-0.177937	-0.135484
pH (Q)	-0.078056	0.017625	-4.4287	0.000258	-0.114821	-0.041291	-0.039028	0.008813	-0.057411	-0.020646
(2)CaCl2 (%) (L)	-0.073338	0.020352	-3.6036	0.001774	-0.115791	-0.030885	-0.036669	0.010176	-0.057895	-0.015443
CaCl2 (%) (Q)	-0.058030	0.017625	-3.2925	0.003639	-0.094795	-0.021265	-0.029015	0.008813	-0.047398	-0.010633
(3)AlgNa (%) (L)	0.007998	0.020352	0.3930	0.698477	-0.034455	0.050451	0.003999	0.010176	-0.017227	0.025225
AlgNa (%) (Q)	-0.090086	0.017625	-5.1113	0.000053	-0.126851	-0.053321	-0.045043	0.008813	-0.063426	-0.026661



Regr. Coefficients; Var.:Densidad aparente (g/cm ³); R-sqr=.9388 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0018638 DV: Densidad aparente (g/cm ³)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	4.97120	0.530708	9.36711	0.000000	3.86416	6.07824
(1)pH (L)	-0.48608	0.086433	-5.62378	0.000017	-0.66638	-0.30579
pH (Q)	0.03469	0.007833	4.42872	0.000258	0.01835	0.05103
(2)CaCl2 (%) (L)	-0.44288	0.123794	-3.57756	0.001884	-0.70111	-0.18465
CaCl2 (%) (Q)	0.05803	0.017625	3.29249	0.003639	0.02127	0.09480
(3)AlgNa (%) (L)	-2.98955	0.588479	-5.08013	0.000057	-4.21709	-1.76200
AlgNa (%) (Q)	1.00096	0.195833	5.11128	0.000053	0.59246	1.40946

Anexo 8.2. Tabla de coeficiente de regresión, estimación efectos y Pareto de densidad compacta de las cápsulas

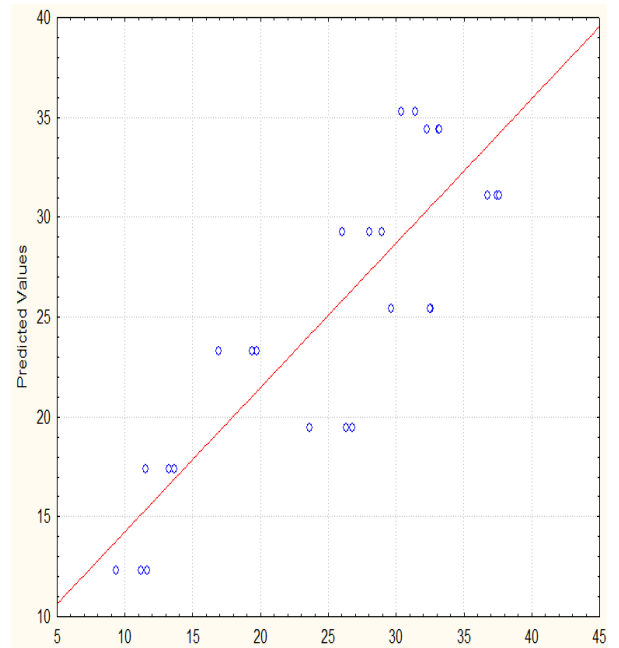
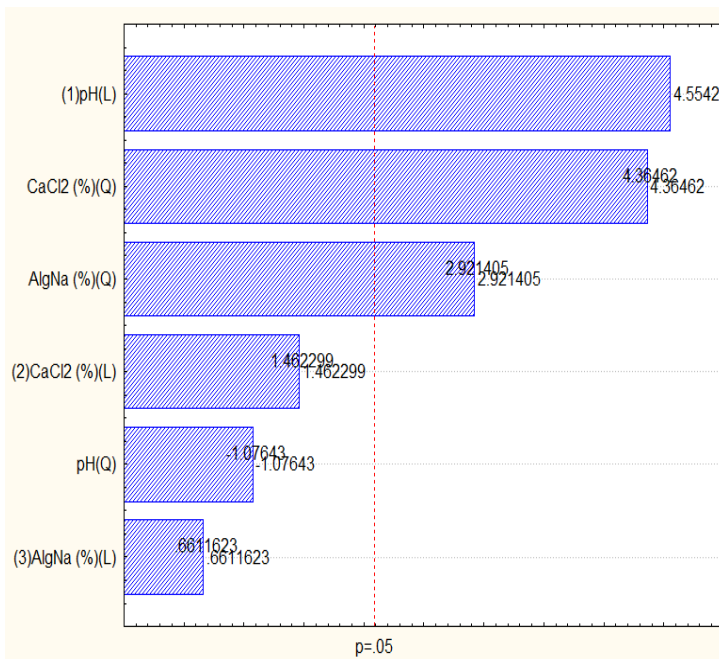
Effect Estimates; Var.:Densidad compacta (g/cm ³); R-sqr= .98989; Adj: .98685 (3**(3-1) fractional factorial design, 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0004187 DV: Densidad compacta (g/cm ³)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.484273	0.003938	122.9712	0.000000	0.476058	0.492488	0.484273	0.003938	0.476058	0.492488
(1)pH (L)	-0.384686	0.009646	-39.8790	0.000000	-0.404808	-0.364564	-0.192343	0.004823	-0.202404	-0.182282
pH (Q)	-0.103671	0.008354	-12.4098	0.000000	-0.121097	-0.086245	-0.051836	0.004177	-0.060549	-0.043123
(2)CaCl2 (L)	-0.060189	0.009646	-6.2396	0.000004	-0.080311	-0.040067	-0.030095	0.004823	-0.040156	-0.020034
CaCl2 (Q)	-0.045077	0.008354	-5.3959	0.000028	-0.062503	-0.027651	-0.022538	0.004177	-0.031251	-0.013825
(3)AlgNa (L)	0.047120	0.009646	4.8847	0.000090	0.026998	0.067242	0.023560	0.004823	0.013499	0.033621
AlgNa (Q)	-0.092124	0.008354	-11.0275	0.000000	-0.109550	-0.074698	-0.046062	0.004177	-0.054775	-0.037349



Regr. Coefficients; Var.:Densidad compacta (g/cm ³); R-sqr= .98989 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=.0004187 DV: Densidad compacta (g/cm ³)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	5.26557	0.251547	20.9327	0.000000	4.74085	5.79029
(1)pH (L)	-0.63507	0.040968	-15.5015	0.000000	-0.72052	-0.54961
pH (Q)	0.04608	0.003713	12.4098	0.000000	0.03833	0.05382
(2)CaCl2 (L)	-0.34563	0.058676	-5.8905	0.000009	-0.46803	-0.22324
CaCl2 (Q)	0.04508	0.008354	5.3959	0.000028	0.02765	0.06250
(3)AlgNa (L)	-2.99226	0.278930	-10.7277	0.000000	-3.57410	-2.41043
AlgNa (Q)	1.02360	0.092822	11.0275	0.000000	0.82998	1.21722

Anexo 8.3. Tabla de coeficiente de regresión, estimación de efectos y Pareto de la solubilidad de las cápsulas

Effect Estimates; Var.:Solubilidad (%); R-sqr=.72245; Adj:.63919 (3**(3-1) fractional factorial design, 1 blo 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=28.95817 DV: Solubilidad (%)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	25.32486	1.035628	24.45363	0.000000	23.16458	27.48514	25.32486	1.035628	23.16458	27.48514
(1)pH (L)	11.55301	2.536759	4.55424	0.000193	6.26142	16.84460	5.77650	1.268380	3.13071	8.42230
pH (Q)	-2.36480	2.196898	-1.07643	0.294549	-6.94745	2.21784	-1.18240	1.098449	-3.47373	1.10892
(2)CaCl2 (%) (L)	3.70950	2.536759	1.46230	0.159196	-1.58209	9.00109	1.85475	1.268380	-0.79104	4.50054
CaCl2 (%) (Q)	9.58862	2.196898	4.36462	0.000300	5.00598	14.17127	4.79431	1.098449	2.50299	7.08564
(3)AlgNa (%) (L)	1.67721	2.536759	0.66116	0.516053	-3.61438	6.96880	0.83860	1.268380	-1.80719	3.48440
AlgNa (%) (Q)	6.41803	2.196898	2.92141	0.008441	1.83538	11.00068	3.20901	1.098449	0.91769	5.50034



Regr. Coefficients; Var.:Solubilidad (%); R-sqr=.72245; Adj:.639 3 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=28.95817 DV: Solubilidad (%)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(20)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-243.564	66.15096	-3.68194	0.001478	-381.552	-105.575
(1)pH (L)	-7.710	10.77363	-0.71566	0.482473	-30.184	14.763
pH (Q)	1.051	0.97640	1.07643	0.294549	-0.986	3.088
(2)CaCl2 (%) (L)	68.975	15.43050	4.47005	0.000235	36.788	101.163
CaCl2 (%) (Q)	-9.589	2.19690	-4.36462	0.000300	-14.171	-5.006
(3)AlgNa (%) (L)	216.730	73.35188	2.95466	0.007835	63.720	369.739
AlgNa (%) (Q)	-71.311	24.40998	-2.92141	0.008441	-122.230	-20.393

Anexo 9. Datos de medidas de diámetro de las cápsulas

n° muestra	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9										
1	1.72	1.8	1.55	2.16	2.36	2.54	2.75	2.03	2.85	50	1.63	1.75	1.81	2.77	2.47	2.52	2.86	2.27	1.75
2	1.81	1.79	1.75	2.32	2.33	2.42	2.44	2.36	2.16	51	1.8	1.8	1.48	2.14	2.31	3.2	2.5	2.41	2.61
3	1.8	1.76	1.83	2.64	2.46	2.91	2.27	2.36	2.18	52	1.81	1.79	1.85	2.4	2.01	2.35	2.43	2.33	2.27
4	1.76	1.64	1.98	2.44	2.4	2.86	2.46	2.29	2.98	53	1.68	1.76	1.75	2.2	2.57	2.64	2.1	2.48	2.49
5	1.63	1.76	1.74	2.42	2.72	3	2.63	1.94	2.55	54	1.67	1.64	1.76	2.4	1.98	1.87	2.12	2.5	2.68
6	1.72	1.77	1.79	2.45	2.61	2.25	2.98	3.12	2.55	55	1.9	1.76	1.68	2.28	2.1	2.32	2.47	2.57	2.43
7	1.92	1.7	1.58	2.32	2.32	2.59	2.08	2.96	2.28	56	1.84	1.77	1.74	2.5	2.86	2.08	2.63	2.53	2.55
8	1.62	1.86	1.57	2.94	2.7	2.57	2.67	2.69	2.69	57	1.9	1.7	1.36	2.16	1.77	2.68	2.51	2.02	2
9	1.65	1.85	1.95	2.12	2.18	2.99	2.54	2.83	2.31	58	1.91	1.86	1.78	2.21	2.73	2.89	1.93	2.81	2.97
10	1.77	1.74	1.86	2.14	1.77	2.22	2.42	2.73	2.28	59	1.88	1.85	1.61	1.64	2.89	2.95	2.04	1.73	2.42
11	1.59	1.8	2.07	2.44	2.94	2.84	2.99	2.18	2.46	60	1.89	1.74	1.78	1.93	2.51	2.64	2.19	2.56	2.45
12	1.6	1.97	2.06	2.38	2.23	2.74	2.25	2.48	2.57	61	1.98	1.8	1.63	2.22	1.94	2.66	2.88	2.39	2.85
13	1.39	1.9	1.55	2.42	2.73	2.51	2.66	2.05	2	62	1.75	1.97	1.9	2.38	2.37	2.3	2.58	2.04	2.56
14	1.71	1.85	1.58	2.56	2.12	3.17	2.73	2.57	2.35	63	1.78	1.9	1.77	2.28	2.02	2.52	2.7	2.6	2.36
15	1.63	1.67	2.13	2.27	2.35	2.51	2.44	2.51	2.88	64	1.85	1.85	1.7	2.45	2.02	2.98	2.64	2.28	2.16
16	1.84	1.78	1.72	2.19	2.18	2.14	2.85	2.39	2.61	65	1.74	1.67	1.84	2.6	2.46	2.99	2.47	2.49	2.92
17	1.85	1.79	1.88	2.65	2	2.73	2.3	2.31	2.14	66	1.75	1.78	1.93	2.45	2.25	3.1	2.58	2.12	2.15
18	1.38	1.63	1.51	2.41	2.32	2	2.48	2.82	1.89	67	1.89	1.79	1.87	2.61	2.54	1.59	2.52	2.39	2.66
19	1.69	1.88	1.46	3	2.42	2.63	2.35	2.43	1.78	68	1.9	1.63	1.6	2.14	2.17	3.23	2.37	2	2.44
20	1.71	1.75	1.91	2.1	2.39	2.73	1.92	2.53	2.33	69	1.78	1.88	1.8	2.5	2.56	2.48	2.4	2.58	2.58
21	1.7	1.68	1.52	2.47	2.21	2.77	2.79	2.23	2.11	70	1.68	1.75	1.82	2.53	2.28	2.56	2.8	1.82	2.54
22	1.69	1.82	1.94	2.84	2.34	2.56	3.09	2.34	2.66	71	1.67	1.68	1.52	2.08	2.12	2.69	2.36	2.72	2.76
23	1.68	1.88	1.83	1.82	2.02	1.91	2.8	2.53	2.3	72	1.45	1.82	1.93	1.93	1.91	2.72	2.8	2.17	2.2
24	1.83	1.88	1.95	2.36	2.36	1.77	2.58	2.15	2.74	73	1.79	1.88	2.01	2	2.24	2.4	3.04	2.03	2.29
25	1.94	1.81	1.89	2.51	2.46	2.54	2.68	2.76	2.36	74	1.81	1.88	1.81	2.24	2.27	3	1.86	1.98	2.5
26	1.93	1.77	2.04	1.83	2.05	1.56	2.14	2.94	2.58	75	1.66	1.81	1.68	1.58	1.91	1.6	0.31	1.59	2.3
27	1.73	1.93	1.76	2.34	2.03	2.77	2.83	2.13	2.42	76	1.94	1.77	1.68	2	2.08	2.76	2.18	1.63	2.86
28	1.74	1.97	2.38	2.28	2.01	2.12	2.38	1.98	2.54	77	1.85	1.93	1.66	2.28	2.88	2.45	2.6	2.58	2.66
29	1.83	1.86	1.92	2.13	2.21	2.07	2.91	2.14	2.09	78	1.82	1.97	1.85	2.27	2.26	2.16	2.47	2.05	2.8
30	1.76	1.75	1.95	1.67	2.5	2.86	2.12	2.89	2.52	79	1.83	1.86	1.81	2.54	2.36	2.49	2.56	1.88	2.7
31	1.75	1.83	1.73	2.11	1.99	2.92	2.25	2.85	2.4	80	1.72	1.75	2.14	1.86	2.61	2.49	2.52	2	1.97
32	1.74	1.55	1.79	2.15	2.13	2	2.11	2.54	2.59	81	1.78	1.83	1.84	2.31	2.55	2.43	2.37	2.5	2.18
33	1.73	1.88	1.73	2.65	1.9	2.84	2.17	2.04	1.71	82	1.93	1.55	1.78	2.44	2.94	2.57	2.38	2.62	2.43
34	1.72	1.91	1.79	1.73	2.24	2.81	2.87	1.85	3.03	83	1.77	1.88	1.98	2.44	2.36	2.8	1.7	2.54	2.91
35	1.73	1.95	1.88	2.32	2.55	2.74	2.19	2.88	2.53	84	1.78	1.91	2.24	2.45	2.29	3.05	2.37	2.3	2.15
36	1.53	1.75	1.78	3.36	2.41	2.07	2.76	2.08	2.44	85	1.87	1.95	1.72	1.92	2.15	2.68	2.87	2.37	2.15
37	1.66	1.61	2.06	1.83	2.21	2.53	2.74	2.32	2.38	86	1.88	1.75	1.68	2.29	2.39	2.33	2.95	2.55	2.25
38	1.67	1.69	1.95	2.58	2.53	2.46	2.58	2.55	2.37	87	1.84	1.61	1.97	2.18	1.91	2.4	2.43	2.51	2.95
39	1.86	1.66	1.86	2.7	2.44	2.45	2.8	2.4	2.55	88	1.85	1.69	1.73	2.26	2.2	2.9	2.47	2.3	2.45
40	1.85	1.65	1.95	2.32	2.1	2.32	2.62	2.34	2.08	89	1.68	1.66	1.89	2.48	1.67	1.8	2.98	2.21	2.72
41	1.64	1.81	2.01	2.05	2.34	1.93	2.28	2.8	1.9	90	1.91	1.65	1.87	2.23	1.69	2.82	1.73	2.52	1.96
42	1.63	1.97	1.79	2.56	2.21	2.06	1.89	2.35	2.84	91	1.92	1.81	1.43	2.03	2.76	2.74	2.78	2.45	2.78
43	1.87	1.8	1.55	2.67	1.54	1.97	2.34	2.56	2.15	92	1.89	1.97	1.7	2.07	2.15	2.9	2.18	2.65	2.37
44	1.81	1.81	2.09	2.43	2.48	1.98	2.36	2.38	2.07	93	1.72	1.8	1.94	2.37	2.22	2.84	3.17	2.15	2.58
45	1.66	1.71	1.63	1.5	1.47	2.01	2.1	2.54	2.6	94	1.6	1.81	1.97	2.69	2.69	2.39	2.21	2.85	2.15
46	1.64	2.06	1.68	2.25	2.08	1.8	2.36	2.41	2.54	95	1.73	1.71	1.82	2.06	1.39	2.38	2.55	2.14	2.43
47	1.66	1.98	1.49	2.34	2.2	2.94	1.71	2.71	2.42	96	1.74	2.06	1.82	1.99	1.82	2.18	2.16	2.64	2.89
48	1.69	1.92	1.89	2.51	2.11	2.12	2.32	2.15	2.55	97	1.65	1.98	1.78	2.1	2.21	2.36	2.46	2.74	2.36
49	1.61	1.86	1.6	2.58	1.77	2.21	2.44	2.57	2.85	98	1.86	1.92	1.76	2.26	1.95	2.11	1.68	1.89	2.09
										99	1.86	1.86	1.99	2.53	2.26	2.07	2.37	2.11	2.42
										100	1.89	1.75	1.78	2.5	3.1	2.81	1.95	2.52	2.38
										Promedio	1.76	1.80	1.80	2.30	2.27	2.49	2.44	2.38	2.44
										SD	0.12	0.11	0.18	0.30	0.32	0.39	0.39	0.31	0.30