

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AMBIENTAL
VALPARAÍSO – CHILE



“EFECTO DE LA MICROENCAPSULACIÓN Y DUREZA DE UN ALIMENTO EN LA DIGESTIÓN CONTROLADA DE EMULSIONES AGUA/ACEITE DE SOYA MEDIANTE ANÁLISIS *IN VITRO*.”

CLAUDIA VICTORIA GONZALEZ ROSAS

Memoria para optar al título de
INGENIERO CIVIL QUÍMICO

Profesores Guía

Dr. Cristian Ramírez B.

Dr. Ricardo Simpson R.

Profesor Co-referente

Ing. Marlene Pinto F.

Agosto, 2018

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar agradeciendo sinceramente a todas las personas que me ayudaron a llegar hasta aquí, principalmente a mis padres, Claudia y Daniel, que sin ellos no hubiera podido alcanzar este logro ni ningún otro, gracias por todo el apoyo brindado durante toda mi vida y por siempre confiar en mí, los amo. También agradecer a mi hermano Martín, que ha sido un pilar muy importante en mi vida y él también es parte de este logro. Gracias a mis tíos, que también siempre han estado ahí para apoyarme y ayudarme. Gracias a mi abuelita Inés, que, aunque no esté aquí en estos momentos, sé que estaría orgullosa de mí, de este logro en el que sin duda ella tuvo gran importancia.

Gracias a mis amigos y amigas, que me ha brindado la universidad, también han sido un gran apoyo durante todos estos años, en los cuales he podido conocer gente muy importante, de la cual estoy segura no perderé contacto. Un agradecimiento especial a mis tortugas, niñas, son como hermanas para mí, estoy agradecida de poder haberlas conocido y que no perdamos contacto. También un agradecimiento especial a mi pololo Gonzalo, que me ha acompañado en este camino.

Debo también agradecer especialmente a mis profesores Cristian Ramírez, Ricardo Simpson y Marlene Pinto, por brindarme la oportunidad de poder desarrollar mi memoria en este tema, especialmente al profesor Cristian Ramírez por su constante ayuda, apoyo y guía durante todo el proceso de realización de esta memoria.

Finalmente, agradezco al proyecto Fondecyt 1160811 por su financiamiento para la realización de esta memoria.

RESUMEN

Los nutrientes necesitan ser liberados de la matriz alimentaria (estructura) luego de su ingestión para poder digerirse, que tan disponibles estén para su absorción dependerá de su tipo de matriz alimentaria. Por ejemplo, el consumo de yogurt genera un efecto de saciedad mayor que el consumo de leche, a pesar de poseer componentes similares, su digestión se ve afectada por su estructura.

Se verifica si la hipótesis es correcta y si la estructura y masticación de un alimento afectan el grado de exposición de los lípidos incorporados como emulsión dentro del alimento modificando la cinética de la digestión durante ensayos *in vitro* realizados mediante pH-stat.

La masticación se evaluó mediante ensayos *in vitro* efectuados a un alimento modelo variando los ciclos de masticación a través de una masticación simulada y validada en 3 niveles y se realizaron digestiones *in vitro* con microcápsulas para evaluar el efecto de la estructura del alimento en la liberación de lípidos.

Para la elaboración del alimento modelo se mezcló agua con aceite en presencia de un agente emulsificante (Tween 80) para luego ser emulsificada con ultrasonido a 350 [W]. Luego generó una solución de alginato de sodio al 20%, la cual fue mezclada con emulsión alcanzando un 3% (v/v) de aceite de soya para luego ser gelificada en presencia de Cloruro de Calcio al 2 [M] y pasadas 48 [h] fue cortada en cubos de 1,4 cm³. La muestra digerida *in vitro* correspondió a 50 cubos.

Para formar las microcápsulas, se encapsuló aceite de soya con alginato de sodio por medio de gelificación iónica sobre una solución de cloruro de calcio, de igual forma, se ingresó al sistema la misma cantidad de aceite que en el alimento modelo.

A los alimentos modelo utilizados se les cuantificó su textura, a las microcápsulas se les determinó su tamaño y humedad, a la emulsión se le determinó el tamaño de partícula y potencial z. A partir de las pruebas realizadas *in vitro* utilizando el método pH-stat, se obtuvieron resultados que permitieron la generación de una curva de hidrólisis de ácidos libres de lípidos, con esto se obtuvieron resultados que permiten demostrar que la masticación genera un efecto significativo en el tamaño de partícula, específicamente se obtuvieron diámetros medios (d_{50}) de 18, 14 y 11 [mm] para 5, 10 y 15 ciclos de masticación respectivamente, lo cual repercute en la cinética de la reacción, la cual es más rápida mientras más masticaciones se realicen, pudiéndose alcanzar un porcentaje de hidrólisis del 52%, la cual es un 22% mayor comparando que la del mismo alimento modelo pero sin haber sido masticado.

Con respecto a la digestión *in vitro* con microcápsulas, se obtuvieron resultados de hidrólisis menores en comparación al alimento modelo, mostrándose una disminución en el porcentaje de hidrólisis con la presencia de microcápsulas, un 18,7% menos comparado al alimento modelo sin masticación. Como conclusión, se pudo identificar que la masticación (tamaño de partícula) y la matriz alimentaria (estructura) afecta significativamente en la digestión *in vitro* de aceite de soya.

ABSTRACT

Nutrients need to be released from the food matrix (structure) after ingestión in order to be digested, how available they are for absorption depends from what type of food matrix they came. For example, the consumption of yogurt generates a greater satiety effect than the consumption of milk drinks, although they have similar components, its effect during digestion is affected by their structure.

It is verified if the hypothesis is correct and if the structure and chewing of the food affect the degree of exposure of the lipids incorporated, as emulsion inside the food, modifying the kinetics of the *in vitro* digestion tests performed by pH-stat.

Chewing (particle size) was evaluated by *in vitro* tests carried out on model food by varying the chewing cycles performed and *in vitro* digestions were made with microcapsules to evaluate the effect of the structure of food on lipid release. The model foods were chewed through a simulated and validated mastication of 3 levels.

To prepare the model food, water was mixed with oil in the presence of an emulsifying agent (Tween 80) and then emulsified with ultrasound at 350 [W]. Then, a solution of 20% sodium alginate was prepared and mixed with emulsion reaching 3% (v/v) of soybean oil and then gelled in the presence of Calcium Chloride at 2 [M] and 48 [h] later was cut into cubes of 1.4 [cm³]. The digested sample *in vitro* corresponded to 50 cubes.

To form the microcapsules, soybean oil was encapsulated with sodium alginate by ionic gelation over a calcium chloride solution, the same amount of oil was digested *in vitro* for microcapsules and for model food.

The texture of the model foods was quantified, for the microcapsules size and humidity were determined and for the emulsion particle size and z potential were obtained.

From the tests carried out *in vitro* using the pH-stat method, there were obtained results that allowed the generation of a hydrolysis curve of lipid-free fatty acids, this results obtained allowed demonstrate that chewing generates a significant effect in the particle size, specifically average diameters (d_{50}) of 18, 14 and 11 [mm] were obtained for 5, 10 and 15 cycles of mastication respectively, which affects the kinetics of the reaction, making it faster the more chewing is done, being able to reach a percentage of hydrolysis of 52%, 22% higher comparing than the same model food not chewed.

In regard to the *in vitro* digestion with microcapsules, lower hydrolysis results were obtained in comparison to model food, showing a decrease in the percentage of hydrolysis with the presence of microcapsules, 18.7% les, compared to model food not chewed.

As a conclusion, it could be identified that chewing (particle size) and the food matrix (structure) significantly affect the *in vitro* digestion of soybean oil.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.2 HIPÓTESIS.....	2
1.3 OBJETIVOS	2
1.3.1 Objetivo General.....	2
1.3.2 Objetivos Específicos.....	2
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES GENERALES.....	3
2.1 MATERIA PRIMA	3
2.1.1 Aceite de Soya.....	3
2.1.2 Tween 80	6
2.1.3 Alginato.....	6
2.2 EMULSIÓN.....	8
2.3 MICROENCAPSULACIÓN.....	9
2.4 MASTICACIÓN	10
2.5 DIGESTIÓN.....	10
2.5 MODELOS DIGESTION <i>IN VITRO</i> CON pH-STAT.....	12
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 MATERIALES	13
3.1.1 Materia Prima y Reactivos.....	13
3.1.2 Equipos	13
3.2 METODOLOGÍA.....	13
3.2.1 Preparación emulsiones aceite de soya/agua (O/W)	13
3.2.2 Medición tamaño partícula emulsión y potencial Z	14
3.2.3 Preparación alimento modelo	14
3.2.4 Preparación microcápsulas de aceite de soya	15
3.2.5 Determinación eficiencia de la microencapsulación	15
3.2.6 Distribución tamaño microcápsulas.....	16
3.2.7 Determinación humedad microcápsulas.....	16
3.2.8 Análisis de textura alimento modelo.....	16
3.2.9 Masticación simulada.....	17
3.2.10 Validación masticador	18
3.2.11 Distribución tamaño partículas alimento masticado.....	18

3.2.12 Digestión <i>in vitro</i> usando pHstat	18
3.2.13 Análisis digestión de lípidos	19
3.2.14 Cálculo porcentaje de hidrólisis de lípidos durante la digestión <i>in vitro</i>	19
3.2.15 Diseño de experimentos	20
CAPÍTULO 4: ANÁLISIS Y RESULTADOS	22
4.1 POTENCIAL Z EMULSIONES.....	22
4.2 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO GOTAS DE ACEITE.....	22
4.3 VALIDACIÓN MASTICADOR	23
4.4 ANÁLISIS DE TEXTURA.....	23
4.5 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO MICROCAPSULAS.....	23
4.6 EFICIENCIA MICROENCAPSULACIÓN	24
4.7 HUMEDAD MICROCAPSULAS.....	24
4.8 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO PARTÍCULA ALIMENTO MASTICADO	24
4.9 DIGESTIÓN <i>IN-VITRO</i> DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES.....	26
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	32
5.1 CONCLUSIONES.....	32
5.2 RECOMENDACIONES.....	33
CAPÍTULO 6: REFERENCIAS	34
CAPÍTULO 7: ANEXOS	38
Anexo 1: Ejemplo cálculo curva hidrólisis.....	38
Anexo 2: Mediciones de potencial Z emulsiones	39
Anexo 3: Mediciones de tamaño de gota emulsión.....	39
Anexo 4: Mediciones Validación Masticador	40
Anexo 4.1: 5 ciclos de masticación.....	40
Anexo 4.1: 10 ciclos de masticación	41
Anexo 4.1: 15 ciclos de masticación	42
Anexo 5: Mediciones Análisis de Textura gel	43
Anexo 5.1 Gráficas de análisis de textura	43
Anexo 6: Mediciones de humedad microcápsulas	49
Anexo 7: Mediciones de tamaño microcápsulas	50
Anexo 8: Mediciones de tamaño partícula alimento masticado	51
Anexo 8.1 Imágenes partículas masticadas.....	51
Anexo 8.2 Gráficas distribución de tamaño de partículas masticadas	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición porcentual promedio de ácidos grasos en aceite de soya. (Orthofer 1996)	4
Tabla 2: Fracciones y masas molares de ácidos grasos que constituyen el aceite de soya.	5
Tabla 3: Propiedades físicas del aceite de soya. (Pryde 1980).....	5
Tabla 4: Propiedades Tween 80. (Sigma-Aldrich).....	6
Tabla 5: Set de experimentos realizados	21
Tabla 6: D ₅₀ para los diferentes ciclos de masticación.	24
Tabla N° 7: Tabla ejemplo del cálculo de liberación de ácidos grasos libres.	38
Tabla 8: Mediciones Potencial Z emulsiones. Nanosizer, todas en diferentes emulsiones.....	39
Tabla 9: Mediciones Tamaño partícula emulsiones. Nano sizer, todas en diferentes emulsiones.....	39
Tabla 10: Mediciones textura en 12 cubos diferentes.....	43
Tabla 11: Mediciones de humedad para 3 muestras diferentes de microcápsulas.	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Primeras 5 semillas oleosas como porcentaje de la producción mundial entre los años 1996 y 2001 (Gunstone 2001).....	3
Figura 2: Estructura de los ácidos que componen el aceite de soya. elaceite.net .	4
Figura 3: Aceite vegetal marca Chef formato 1 L	5
Figura 4: Monómeros del ácido algínico.	7
Figura 5: Bloques poliméricos de ácido manurónico (M) y ácido gulurónico (G).	7
Figura 6: Modelo "caja de huevo" que describe estructura del alginato. (Adaptada de Reddy y Reddy 2010).....	7
Figura 7: Emulsión Aceite en agua (O/W).....	8
Figura 8: Ejemplificación Potencial Z.	9
Figura 9: Aparato digestivo. National Digestive Diseases Information Clearinghouse.....	11
Figura 10: Sistema pH-stat (Li & McClements, 2010).....	12
Figura 11: Relación entre fuerza de masticación y fuerza de tensión. (Mioche et al. 1994).	17
Figura 12: Histograma del tamaño de gota de aceite en la emulsión.....	22
Figura 13: Histograma tamaño de microcápsulas.....	23
Figura 14: Histograma tamaño partícula masticada con 5 ciclos de masticación.	25
Figura 15: Histograma tamaño partícula masticada con 10 ciclos de masticación.	25
Figura 16: Histograma tamaño partícula masticada con 15 ciclos de masticación.	26
Figura 17: Volumen de NaH liberado durante digestión in-vitro de geles de alginato al 20% p/p sin presencia de emulsión.	27
Figura 18: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro – GNA para geles con 5, 10 y 15 ciclos de masticación.....	28
Figura 19: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro - GNB para geles con 5, 10 y 15 ciclos de masticación.....	29
Figura 20: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro – GNC para geles con 5, 10 y 15 ciclos de masticación.....	29
Figura 21: Hidrólisis de ácidos grasos libres representadas con sus barras de error para geles con 5 y 15 ciclos de masticación.	30
Figura 22: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in vitro de microcápsulas.	31
Figura 23: 5 ciclos de masticación humana	40
Figura 24: 5 ciclos de masticación simulada.	40
Figura 25: 10 ciclos de masticación humana.	41
Figura 26: 10 ciclos de masticación simulada.	41
Figura 27: 15 ciclos masticación humana.....	42
Figura 28: 15 ciclos de masticación simulada.	42
Figura 29: Medición N°1 de Análisis de Textura.....	43

Figura 30: Medición N°2 de Análisis de Textura.....	44
Figura 31: Medición N°3 de Análisis de Textura.....	44
Figura 32: Medición N°4 de Análisis de Textura.....	45
Figura 33: Medición N°5 de Análisis de Textura.....	45
Figura 34: Medición N°6 de Análisis de Textura.....	46
Figura 35: Medición N°7 de Análisis de Textura.....	46
Figura 36: Medición N°8 de Análisis de Textura.....	47
Figura 37: Medición N°9 de Análisis de Textura.....	47
Figura 38: Medición N°10 de Análisis de Textura.....	48
Figura 39: Medición N°11 de Análisis de Textura.....	48
Figura 40: Medición N°12 de Análisis de Textura.....	49
Figura 41: Imagen microcápsulas en scanner.....	50
Figura 42: Imagen N°1 partículas con 5 ciclos de masticación.....	51
Figura 43: Imagen N°2 partículas con 5 ciclos de masticación.....	52
Figura 44: Imagen N°3 partículas con 5 ciclos de masticación.....	53
Figura 45: Imagen N°1 partículas con 10 ciclos de masticación.....	54
Figura 46: Imagen N°2 partículas con 10 ciclos de masticación.....	55
Figura 47: Imagen N°3 partículas con 10 ciclos de masticación.....	56
Figura 48: Imagen N°1 partículas con 15 ciclos de masticación.....	57
Figura 49: Imagen N°2 partículas con 15 ciclos de masticación.....	58
Figura 50: Imagen N°3 partículas con 15 ciclos de masticación.....	59
Figura 51: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 5 ciclos de masticación.....	60
Figura 52: Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 5 ciclos de masticación.....	60
Figura 53: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 5 ciclos de masticación.....	61
Figura 54: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 10 ciclos de masticación.....	61
Figura 55 : Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 10 ciclos de masticación.....	62
Figura 56: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 10 ciclos de masticación.....	62
Figura 57: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 15 ciclos de masticación.....	63
Figura 58: Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 15 ciclos de masticación.....	63
Figura 59: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 15 ciclos de masticación.....	64

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1 INTRODUCCIÓN

Un alimento, cualquiera sea, posee una cierta cantidad de nutrientes debido a su composición, por otro lado, esta cantidad puede no ser completamente absorbida y utilizada por el ser humano, a esto se denomina biodisponibilidad de nutrientes. Por ello es importante considerar los factores que pueden provocar una variación en este valor, y más aún, poder encontrar la manera de controlar su liberación durante el proceso digestivo, pero antes de eso, es necesario conocer qué es la digestión.

La digestión es el proceso que permite transformar un alimento de modo de que el cuerpo pueda nutrirse a partir de él, permitiendo su uso como fuente de energía, para formar y alimentar las células.

El proceso digestivo inicia en la boca al momento de masticar el alimento (permitiendo su disminución de tamaño), en este lugar las glándulas salivales de la boca de liberan enzimas que permite iniciar la digestión del alimento y formar el bolo alimenticio, el cual se dirige a través del esófago hacia el estómago, donde ocurre la digestión gástrica. Finalmente, llega al intestino delgado, lugar en el cual ocurre la digestión intestinal, donde son absorbidos los nutrientes, en el caso de los lípidos, su absorción ocurre únicamente en el intestino delgado, no siendo absorbidos durante la digestión gástrica.

Por ejemplo, Miquel-Kergoat et al. (2015) concluye que a partir de una serie de estudios que existe evidencia de que la masticación puede disminuir el hambre y la ingesta de alimentos y, en última instancia el peso corporal. Por otra parte Ranawana et al. (2013) comparó el efecto de masticar 15 contra 30 veces arroz, observando que el aumento de masticaciones produce una reducción de tamaño, lo cual favorece el aumento en el índice glicémico, demostrando que la masticación puede ser una variable intrínseca que puede tener un impacto en el alimento, especialmente para la liberación de los carbohidratos contenidos en él.

Dados estos resultados, se observa que, para un mismo alimento, la absorción de nutrientes cambia con variar el número de masticaciones, en otras palabras, el alimento tiene una cantidad de nutrientes presente, pero sus nutrientes biodisponibles para ser absorbidos son inciertos, razón por la cual se hace interesante conocer el efecto de la masticación (su relación con el tamaño de partícula) en la digestión.

Por otra parte, naturalmente los nutrientes se encuentran confinados dentro de la microestructura de los alimentos, y de ahí, que su liberación durante la digestión no es la óptima, existiendo otra característica que afecta la

biodisponibilidad de los nutrientes, como lo es la matriz alimentaria (estructura del alimento).

1.2 HIPÓTESIS

La estructura y masticación de un alimento afectan el grado de exposición de los lípidos incorporados como emulsión dentro del alimento modificando la cinética de la digestión durante ensayos *in vitro*.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la estructura y masticación de un alimento en la liberación de aceite durante un proceso de digestión *in-vitro* de aceite de soya.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Optimizar las condiciones de operación para la preparación y caracterización de una emulsión agua/aceite usando aceite de soya y ultrasonido.
- Optimizar las condiciones de operación para la microencapsulación de aceite de soya mediante gelificación en frío.
- Caracterización fisicoquímica del aceite de soya microencapsulado mediante gelificación en frío.
- Determinar mediante análisis de imágenes el tamaño de partícula (distribución) luego de aplicar diferentes números de ciclos de masticación a los alimentos modelo.
- Estudiar el efecto del tamaño de partícula en la digestión de aceite de soya mediante ensayos *in vitro* usando pH-Stat.
- Establecer relaciones cuantitativas entre distribución de tamaño y la tasa de digestión del aceite de soya durante la digestión *in vitro*

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES GENERALES

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de masticación y microencapsulación en la digestión del aceite de soya, siendo de esta manera, el aceite de soya el componente principal de esta investigación. Además, para poder realizar las pruebas, este debe estar en forma de emulsión, es decir, mezclado con agua, lo cual es posible con la adición de un agente emulsificante, Tween 80 fue el seleccionado, y, por otra parte, para la fabricación del alimento modelo se requirió gelificar la emulsión, utilizándose alginato para ello. En el siguiente punto se mencionan y caracterizan estos tres, que componen la materia prima.

2.1 MATERIA PRIMA

2.1.1 Aceite de Soya

La soya es la semilla oleosa más producida en el mundo debido a sus características agronómicas favorables, su proteína es de alta calidad y su aceite es comestible, su producción contribuye más del 50% de la producción mundial como puede observarse en la Figura 1 (Gunstone, 2002).

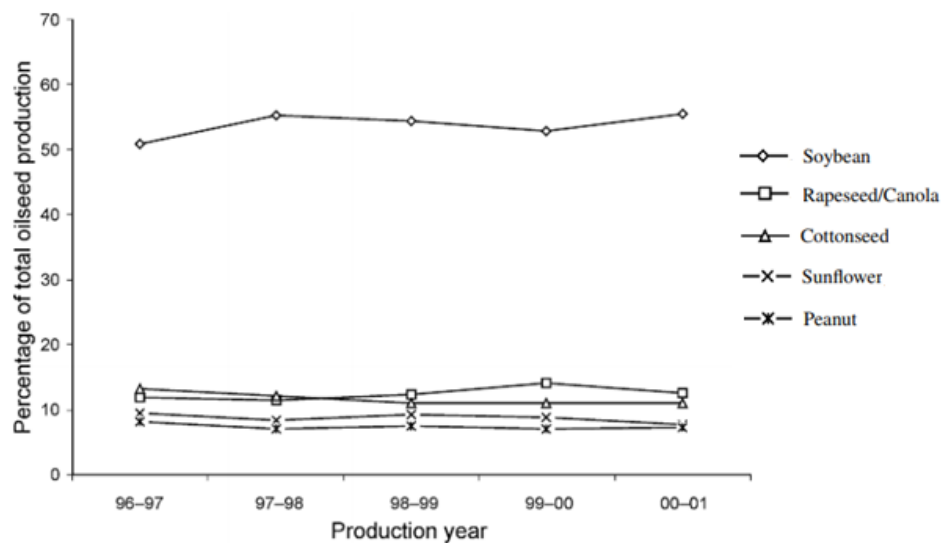


Figura 1: Primeras 5 semillas oleosas como porcentaje de la producción mundial entre los años 1996 y 2001 (Gunstone 2001)

El aceite de soya se recupera por extracción por solvente o a través de trenzado mecánico, éste contiene una variada cantidad de ácidos grasos, predominando el linoleico y oleico, como se observa en la Tabla 1:

Tabla 1: Composición porcentual promedio de ácidos grasos en aceite de soya. (Orthoefer 1996)

Ácido Graso	Porcentaje en peso promedio
Mirístico	0.1
Palmítico	11.0
Palmitoleico	0.1
Esteárico	4.0
Oleico	23.4
Linoleico	53.2
Linolénico	7.8
Araquidónico	0.3
Behenico	0.1

A partir de esto se considera como aceite de soya a la mezcla mayoritaria de ácido linoléico (53,2%), ácido oleico (23,4%) y palmítico (11%). La estructura de estos ácidos puede observarse en la Figura 2.

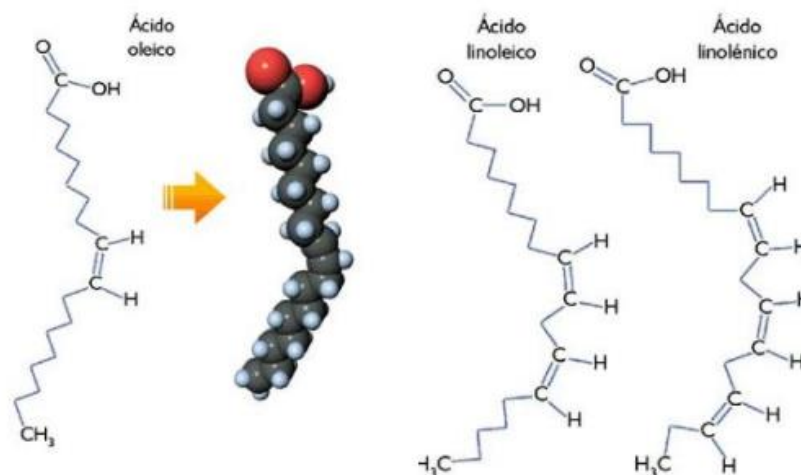


Figura 2: Estructura de los ácidos que componen el aceite de soya. elaceite.net

De manera que se obtiene como peso molecular del aceite de soya uno elaborado por la mezcla de los tres ácidos grasos ya mencionados, como se observa en la Tabla 2:

Tabla 2: Fracciones y masas molares de ácidos grasos que constituyen el aceite de soya.

Ácido Graso	Fracción del total	Fórmula Química	Peso molecular
Linoleico	0.607	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280,45
Oleico	0.267	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282,47
Palmítico	0.126	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,40

Obteniéndose finalmente un aceite de soya con masa molar de 277,97 [g/mol].

El aceite de soya se considera un triglicérido producto de la esterificación de los tres grupos -OH de los ácidos grasos anteriormente mencionados.

La digestión del aceite de soya ocurre en el intestino delgado, por cada molécula de triglicérido que ingresa al sistema, la enzima lipasa la reduce finalmente a 2 moléculas de ácidos grasos (Li & McClements, 2010).

El aceite de soya posee las siguientes propiedades, que pueden ser observadas en la Tabla 3:

Tabla 3: Propiedades físicas del aceite de soya. (Pryde 1980)

Propiedad	Valor
Gravedad específica (25°C)	0,9175
Índice refractivo	1,4728
Viscosidad (25°C)	50,09 [cP]
Punto de solidificación (°C)	-10 a 16
Calor específico (19,7°C)	0,458 [cal/g]
Calor de combustión	9478 [cal/g]

En el laboratorio se trabajó con aceite 100% vegetal Chef (ver Figura 3) el cual posee un 99% de aceite de soya y 1% aceite de palma.



Figura 3: Aceite vegetal marca Chef formato 1 L

2.1.2 Tween 80

Tween 80, también llamado por su nombre IUPAC Monooleato de polioxietilen(20)sorbitano o polisorbato 80, es un aditivo que emulsiona y disuelve grasas, está clasificada como emulsionante no iónico según la Unión Europea para su uso en alimentos. Es un líquido viscoso que posee un color amarillo, el cual es soluble en agua y posee las propiedades mencionadas en la Tabla 4 (Sigma-Aldrich, 2018):

Tabla 4: Propiedades Tween 80. (Sigma-Aldrich)

Propiedad	Valor
Solubilidad	1 [ml]/10 [ml] agua
Densidad (25°C)	1,07 g/[cm ³]
Masa molar	1,310 [g/mol]
pH	5,5-7,5
Viscosidad (25 °C)	400 – 620 [cP]

2.1.3 Alginato

Los alginatos son los polisacáridos más abundantes presentes en algas marinas marrones (40% de su peso seco), estos componen su pared celular, brindándole rigidez, elasticidad, flexibilidad y capacidad de enlazar agua (Hernández, López, & García, 2005). Se puede extraer de tres especies de algas marinas marrones, incluyendo *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*, donde naturalmente son encontrados como una mezcla de las sales comunes del agua de mar (Ca⁺², Mg⁺² y Na⁺).

Este compuesto ha sido utilizado debido a sus múltiples ventajas para el consumo humano y a su alta aplicabilidad a la industria alimenticia, posee un efecto prebiótico, debido a su alto porcentaje de fibra reduce los niveles de azúcar y colesterol en la sangre, además de poder aumentar la vida útil de los alimentos, siendo utilizada para mantener alimentos durante el procesamiento y almacenaje (Parra, 2011).

Los alginatos son polisacáridos lineales que están constituidos por cantidades que pueden variar de ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G), se pueden observar sus estructuras en la Figura 4. Siendo una relación característica del alginato su relación M/G, producto de la razón entre los ácidos antes mencionados M y G, este valor depende de la fuente de la cual fue extraído y, además, esta relación también determina sus propiedades físicas, como, por ejemplo, su capacidad gelificante). Estos ácidos se agrupan en secciones construyendo homopolímeros tipo bloques G(-GGG-), bloques M (-MMM-) o heteropolímeros alternando los bloques M y G (-MGMG-), los bloques MM y MG se unen por enlaces glucosídicos β y los bloques GG y GM por enlaces glucosídicos α (Lupo, González, & Maestro, 2012).

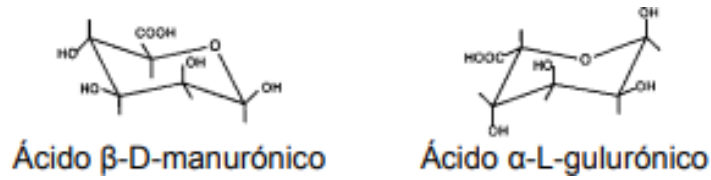


Figura 4: Monómeros del ácido algínico.

La distribución de los monómeros en la cadena y la carga y volumen de los grupos carboxilos brindan al gel de flexibilidad o rigidez, por ejemplo, si hay una mayor cantidad de bloques G, es decir si la razón M/G es más pequeña el gel tiende a ser más duro y frágil.

Cabe mencionar que los bloques M corresponden a cadenas lineales, mientras que los bloques G poseen estructura de bucle, como puede observarse más a detalle en la Figura 5. Cuando dos cadenas de bloques G se alinean, se forman puntos de coordinación, de modo que, dada la forma de bucles de las cadenas, se generan cavidades con el tamaño adecuado para hacer ingreso al ión calcio, cuando el ión calcio se adiciona al alginato, este último sufre cambios en su conformación, dando lugar al modelo de gelificación del alginato, conocido como “caja de huevo”, esto se puede observar con mayor detalle en la Figura 6 (Avendaño, López, Palou, & Palou, 2013).

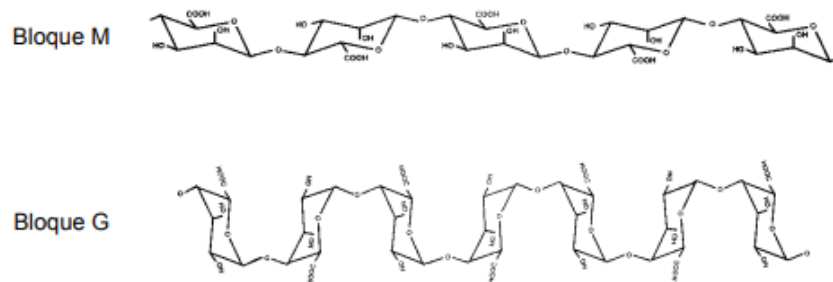


Figura 5: Bloques poliméricos de ácido manurónico (M) y ácido gulurónico (G).

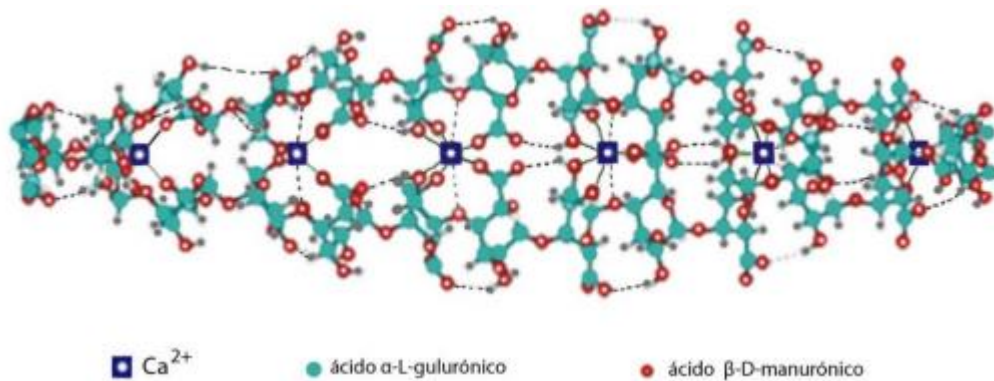


Figura 6: Modelo “caja de huevo” que describe estructura del alginato. (Adaptada de Reddy y Reddy 2010)

Lo que aquí ocurre es un intercambio iónico entre el sodio presente en el alginato de sodio (con agua como solvente) y el calcio presente en una solución de cloruro de calcio, formando alginato de calcio, el cual permanece como gel.

2.2 EMULSIÓN

Una emulsión es una suspensión de dos líquidos inmiscibles entre ellos, es decir, que naturalmente no se mezclan, dispersando uno en el otro, como en este estudio, agua y aceite, siendo la fase dispersa el líquido desintegrado y la fase continua, la externa. La emulsión a preparar es aceite/agua, o también (O/W) del inglés oil/water, en este caso, la fase dispersa es el aceite y la fase continua es el agua, como se observa en la Figura 7. La mezcla es visualmente homogénea (uniforme).

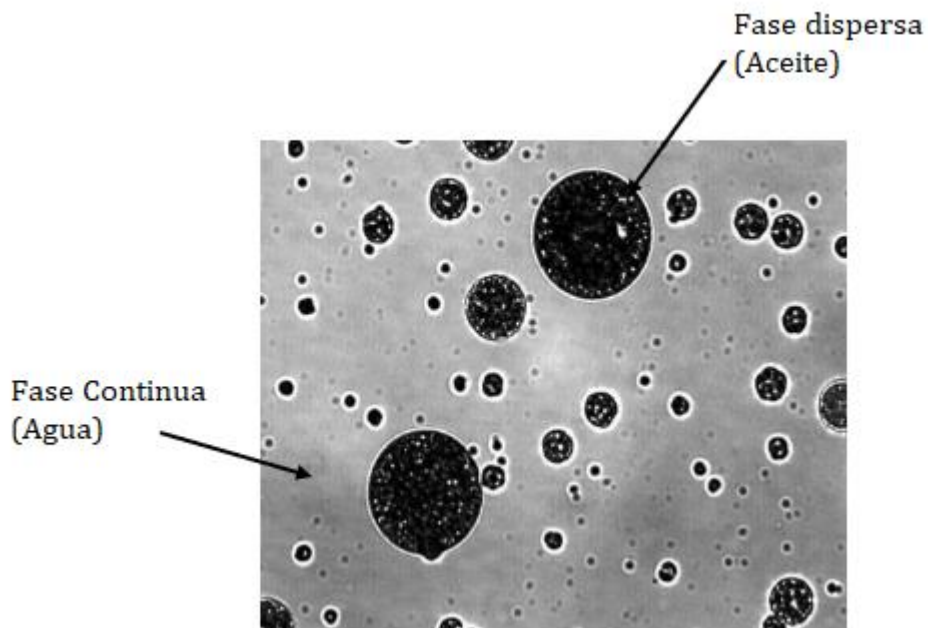


Figura 7: Emulsión Aceite en agua (O/W)

Para hacer a esta mezcla estable, se utiliza un agente para sostener las gotas y evitar que se separen, a esto se le llama agente emulsificante.

Una de las características más importantes de una emulsión es su estabilidad, esta depende de varios puntos, como los siguientes (Kosegarten-Conde & Jiménez-Munguía, 2012):

- Viscosidad
- Tamaño de gota
- Porcentaje del compuesto deseable encapsulado
- Presencia de coalescencia, ruptura por hinchazón o encogimiento.
- La naturaleza, eficacia y cantidad de emulsificante
- Almacenamiento (Temperaturas, agitación, dilución o evaporación)

El factor más representativo según Helmenstine (2017), es el valor del Potencial Z, el cual describe el potencial electrostático cerca de la superficie de una partícula suspendida en líquido, el cual es medido en milivolts (mV), para que una emulsión sea estable, este valor de ser más negativo que -15 [mV], a medida que este valor se hace más negativo, más estable es la emulsión.

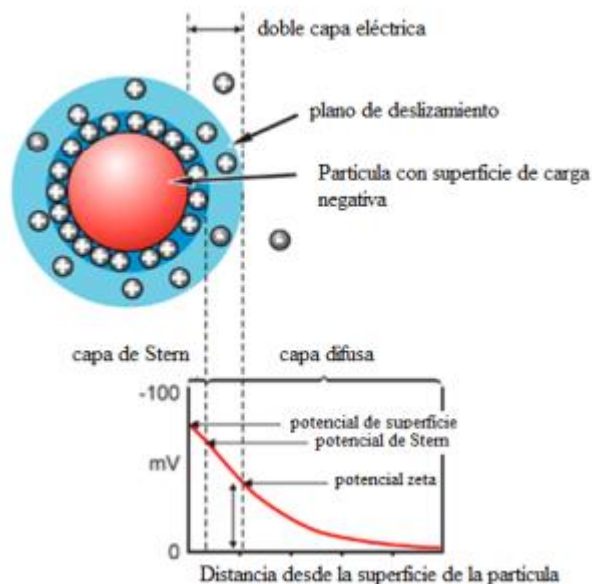


Figura 8: Ejemplificación Potencial Z.

2.3 MICROENCAPSULACIÓN

El término microcápsula se define como una partícula esférica con tamaño variable entre 50 nm y 2 mm, la cual contiene una sustancia en su interior, a su vez, el término microesfera considera una partícula esférica vacía, usándose erróneamente como sinónimo. Estas pueden contener tanto sólidos, líquidos o gases, pero en su mayoría han sido utilizadas para la encapsulación de emulsiones líquidas (Brown, 2004).

Existen una cantidad innumerable de métodos para preparar micropartículas para usos que van desde aplicaciones cosméticas a farmacéuticas y alimenticias, entre los métodos más utilizados en la industria

alimenticia son secado spray, lechos fluidizados, co-cristalización, gelificación iónica, emulsificación y coacervación compleja.

2.4 MASTICACIÓN

La boca es el primer paso de la digestión, cumpliendo por ello la masticación un papel importante en el proceso digestivo, ya que permite la trituración del alimento, lubricación mediante la secreción de saliva y su paso hacia el estómago.

Se ha comprobado que la microestructura de la comida (consecuencia del masticado) juega un rol importantísimo en la liberación y biodisponibilidad de nutrientes (Parada & Aguilera, 2007), así como también se ha determinado que existe un aumento en la biodisponibilidad de carotenoides producido por la masticación (Low, D'Arcy, & Gidley, 2014)

El número de ciclos de masticación depende significativamente del tipo de alimento a ser tragado (Engelen, Fontijn-Tekamp, & Van der Bilt, 2015), dependiendo este número de factores como la dureza, humedad, composición, entre otros. Además, también fue demostrado por Agrawal et al (1998) que la textura del alimento tiene una gran influencia en la masticación y tragado.

La masticación, puede ser simulada de manera *in vitro*, considerando el proceso como el movimiento de las mandíbulas con el propósito de triturar el alimento, siendo la mandíbula inferior la encargada de realizar el movimiento, siendo esto posible de simular y obtener resultados semejantes. Estos masticadores poseen cinco variables claves para su funcionamiento: dientes o equivalente, volumen interior de la cavidad, saliva o equivalente, control de temperatura y cinética o modalidad de movimiento (Peyron & Woda, 2017)

2.5 DIGESTIÓN

El aparato digestivo se forma por el tracto digestivo, una serie de órganos que forman el tracto digestivo, además de otros órganos que ayudan al cuerpo a transformar y absorber alimentos (American Dietetic Association, 2008), como puede apreciarse en la Figura 9.

Los órganos que forman el tracto digestivo son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el recto y el ano.

El proceso de digestión tiene como finalidad descomponer los alimentos, de modo que, los nutrientes contenidos en ellos puedan ser absorbidos y enviados hacia la sangre, para finalmente ser utilizados como fuente de

energía para las células del cuerpo. Como se ha mencionado anteriormente, este proceso inicia en la boca, disminuyendo el tamaño del alimento y gracias a la producción de saliva, forma el bolo alimenticio, el cual puede ser tragado y transportado a través del esófago hacia el estómago, allí ocurre la digestión gástrica, proceso en el que el bolo alimenticio es fracturado químicamente por los jugos gástricos disminuyendo aún más su tamaño, aumentando el área de contacto total, estos jugos gástricos son el ácido gástrico, bilis y enzimas digestivas (Kong & Sigh, 2008), entre ellas la pepsina, que es la encargada de la hidrólisis de proteínas, otra es la lipasa, que digiere parcialmente lípidos, ocurriendo esto a un pH cercano a 2, terminado este proceso el bolo pasa a llamarse quimo y es transportado hacia el intestino delgado.

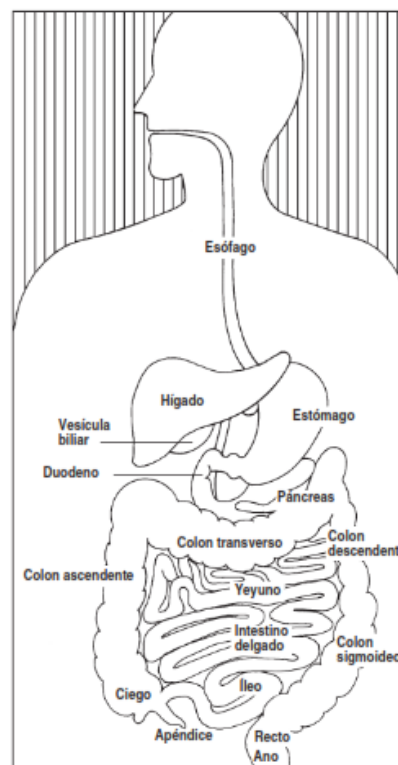


Figura 9: Aparato digestivo. National Digestive Diseases Information Clearinghouse

El intestino delgado debe ahora cumplir su función, la de completar la digestión del alimento, ahora llamado quimo, haciendo uso del jugo pancreático e intestinal, finalmente provocando la absorción de los nutrientes y la neutralización de las sales, proceso que ocurre a pH 7, absorbiéndose cada tipo de nutriente en una sección del intestino delgado, en el duodeno se absorben algunas sales minerales, nutrientes energéticos y vitaminas, en el yeyuno se absorbe la mayor cantidad de nutrientes energéticos, algunas sales minerales y agua, y finalmente en el íleon es donde se absorben otras sales

minerales, vitaminas y nutrientes energéticos, así como también agua y sales biliares. Por su parte, el intestino grueso no es importante en cuanto a absorción de nutrientes, pero sí para absorción de agua y algunas sales minerales y vitaminas (Perez, 2018).

Así como la masticación, la digestión también puede ser llevada a cabo de manera *in vitro*, asegurándose de cumplir las condiciones de pH, jugos digestivos y tiempos de digestión, que deben ser similares a los del cuerpo humano para que los resultados puedan ser representativos.

2.5 MODELOS DIGESTION *IN VITRO* CON pH-STAT

El método pH-stat es una herramienta analítica cuyo uso es cada vez mayor en la investigación farmacéutica y alimentaria para la caracterización *in vitro* de la digestión de lípidos simulando condiciones intestinales.

Este método se basa en la medición de la cantidad de ácidos grasos libres liberados de lípidos, generalmente triglicéridos, luego de la adición de lipasa a valores de pH cercanos al neutro, a temperatura controlada en un simulado de fluido intestinal (SSIF).

La lipasa en el SSIF cataliza la reacción de hidrólisis de lípidos, lo cual produce la generación de dos ácidos grasos libres (FFA), generando una disminución de pH en el sistema, la cual será valorada comúnmente con NaOH a modo de mantener el pH inicialmente establecido, todo esto es registrado en el tiempo, de modo que se traduce en una herramienta relativamente simple y rápida para llevar a cabo hidrólisis de lípidos. (Li & McClements, 2010).

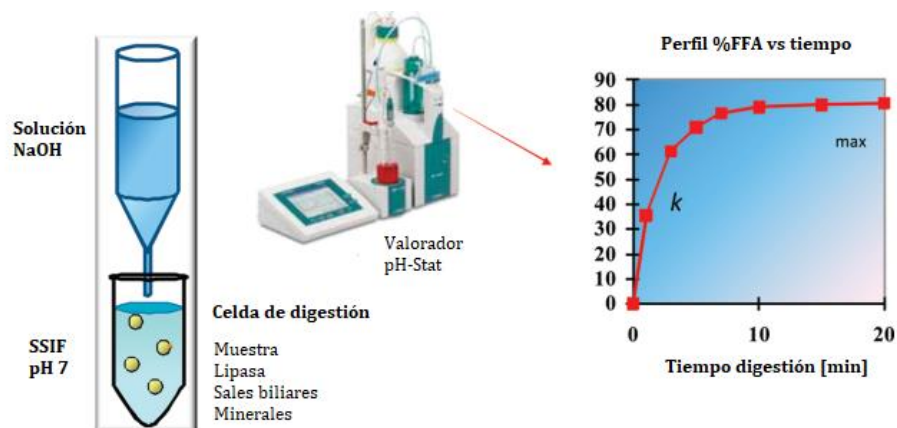


Figura 10: Sistema pH-stat (Li & McClements, 2010)

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materia Prima y Reactivos

- Aceite de soya (99%) (Chef)
- Tween 80 (Chemix)
- Alginato de sodio (Lobachemie)
- Cloruro de calcio (Merck)
- Lipasa pancreática porcina Tipo II L3126 (Sigma Aldrich)
- Cloruro de Sodio (GA ventas)
- Extracto de bilis porcina B8631 (Sigma Aldrich)
- Hidróxido de Sodio (GA ventas)
- Sodio fosfato monobásico (GA ventas)
- Sodio fosfato dibásico (GA ventas)

3.1.2 Equipos

- Homogeneizador (Ultra-Turrax, modelo T25, Alemania)
- Sonificador (Qsonica, modelo Q700, Estados Unidos)
- Nanosizer (Malvern, modelo Nano-ZS90, Inglaterra)
- Agitador mecánico (Hsiangtai, modelo CP-4, Taiwan)
- Baño termostático (Hilab, modelo BHP-100)
- Masticador mecánico (Universidad Técnica Federico Santa María, Chile)
- Valorador Compacto (Mettler Toledo, modelo G20s, Suiza)
- Estufa (Mettler, Alemania)
- Scanner (Cannon, modelo LiDE110, Vietnam)

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Preparación emulsiones aceite de soya/agua (O/W)

La preparación de la emulsión consta de 2 etapas importantes: La homogenización y la aplicación de ultrasonido.

La velocidad y tiempo de cada etapa se basó en varias publicaciones asegurando una emulsión estable de acuerdo a los valores de potencial Z a

mencionar más adelante. Muhamad et al (2015), utilizaron Ultra-Turrax T25 a 24000 rpm por 5 minutos, Yaghmur et al. (1999) utilizaron Ultra-Turrax T25, pero a una velocidad de 9500 rpm por 15 minutos, inclusive se utilizó Ultra-Turrax T18 a 14000 rpm por 4 minutos en otra publicación del Journal of Food Engineering (Perrechil & Cunha, 2010). En cuanto a la etapa de ultrasonido, esta se basó en dos publicaciones, en la primera Zouboulis et al. (2000) utilizaron un Minisonic 4 por 60 segundos sin especificar los Volts o Watts utilizados, no así en la publicación del International Journal of Pharmaceutics, Silva et al. (2013) utilizaron el equipo Digital Sonifier, modelo 450, Branson Ultrasonic S.A a 140 [V], también por 60 [s].

Luego de varias pruebas y alcanzando una emulsión estable y de pequeño tamaño de partícula la preparación de la emulsión se estandarizó de la siguiente manera:

La emulsión fue preparada mezclando 4 [mL] de Tween 80 con 60 [mL] de agua destilada en un agitador magnético a 35°C hasta diluir completamente, cuando esto ocurre se adicionan 36 [mL] de aceite de soya. Luego esta mezcla es llevada a agitación a una velocidad de 20.000 rpm por 10 minutos con Ultra-turrax T25, procurando no calentar demasiado la emulsión, enfriándola en intervalos. El siguiente paso es el ultrasonido, el cual es realizado con el ultrasonido de Qsonica modelo Q700 utilizado al 50% de potencia (350 W) por un intervalo de 60 segundos. Una vez terminado este proceso, se debe ajustar el pH de la emulsión a 7, agregando gotas de NaOH al 0.15 [M].

3.2.2 Medición tamaño partícula emulsión y potencial Z

La emulsión ya preparada es diluida 100 veces (0.1[mL] en 10 [mL]) (Liu, Sun, Li, Liu, & Xu, 2006) para ser llevada al Nanosizer modelo Nano-ZS90 y allí medir el tamaño de partícula de las gotas de aceite dispersas en la emulsión, así como también su potencial Z.

3.2.3 Preparación alimento modelo

El alimento modelo fue preparado utilizando alginato de sodio y emulsión, el alginato se utilizó para producir la gelificación del alimento y la emulsión, como fuente de lípidos (aceite de soya).

Para preparar el alimento modelo se disolvió 30 gramos de alginato de sodio en 1500 [mL] de agua destilada, mezclándose en un agitador magnético durante 12 horas a temperatura ambiente.

Pasadas las 12 horas, se añade una cantidad de emulsión para obtener finalmente una solución al 3% (p/v) de aceite, esta mezcla es llevada a un baño

termorregulado modelo BHP-100 de Hilab a 80°C durante 15 minutos con agitación mecánica continua de 300 rpm utilizando el agitador modelo CP-4 de Hsiangtai, a modo de asegurar la gelificación de la emulsión, luego de los 15 minutos se deja enfriar la solución hasta alcanzada la temperatura ambiente.

Esta solución fue sumergida en una solución de 1500 [mL] de CaCl₂ al 2 [M] (añadida con jeringa para asegurar homogeneidad del gel), dejándose sumergida durante 48 horas a modo de asegurar el intercambio iónico de sodio y calcio entre ambas soluciones.

Una vez transcurridas las 48 horas, se extrae el gel ya formado de la solución y se cortó en cubos de 1,4 [cm³].

3.2.4 Preparación microcápsulas de aceite de soya

La microencapsulación se basó en el método descrito por Chan et al. (2011), se realiza una solución de alginato y de gelificante, la solución de alginato es elaborada a una concentración de 20 [g/L], esta es agitada por 12 horas en un agitador magnético. A su vez, se prepara una solución de CaCl₂ de una concentración de 15 [g/L].

Aceite es mezclado gradualmente con la solución de alginato con agitación a 300 rpm con el agitador modelo CP-4 de Hsiangtai por 45 minutos para producir la emulsión alginato/aceite hasta llegar a un 40% en volumen de aceite.

Se llenó 50 [mL] de emulsión alginato/aceite en una jeringa con aguja de 0.85 mm ubicada a 15 [cm] sobre la superficie de la solución de CaCl₂ y se procede a liberar a una velocidad de 1 [mL/min], gota a gota, la emulsión aceite de soya/alginato en la solución de CaCl₂, esto se realiza agitando en un agitador magnético para evitar la coalescencia de las microcápsulas, esto se deja reposar por al menos 30 minutos en la solución manteniéndose en agitación con un agitador magnético, luego de esto son filtradas y limpiadas cuidadosamente con papel. Las microcápsulas son finalmente secadas en una estufa marca Memmert a 60[°C] por aproximadamente 5 horas, procurando se encuentren completamente secas para su almacenaje, luego se toma una muestra para determinar su humedad final.

3.2.5 Determinación eficiencia de la microencapsulación

Es necesario determinar la eficiencia de la microencapsulación para conocer la cantidad de aceite contenido dentro de las microcápsulas, esto se determina por medio de la disolución de una muestra de microcápsulas en un

medio neutro (Buffer fosfato a pH 7), luego de la disolución completa de las cápsulas, se separa el contenido en tubos de 10 [mL], los cuales son centrifugados por 10 minutos a 2500 rpm, para luego extraer el aceite que se encontrará en la parte superior de la solución, a este se le mide su masa, determinando de esta manera la cantidad de aceite contenida las cápsulas disueltas, de modo de obtener el porcentaje de aceite contenido en las cápsulas.

3.2.6 Distribución tamaño microcápsulas

Las microcápsulas se midieron para determinar su tamaño, esto se realizó por medio de un análisis de imagen utilizando un scanner (LiDE110, Cannon) según método describo por Millón (2014).

La imagen fue posteriormente analizada en el software Image-Pro Plus, utilizando la herramienta de binarización de imagen, con la cual se pudo determinar el diámetro promedio de partícula para cada set de datos.

3.2.7 Determinación humedad microcápsulas

Se midió la masa inicial de 3 placas Petri, a las cuales se les añadió una masa de microcápsulas, posteriormente las placas fueron secadas en una estufa marca Memmert a 105°C, para luego determinarse su masa hasta que esta se mantuviera constante, procedimiento realizado según la NCh 841. Of 78 “Alimentos – Determinación de humedad”.

3.2.8 Análisis de textura alimento modelo

Se realizó mediciones de textura para cada gel elaborado, estas mediciones se tomaron en el texturómetro Texture Analyser CT3 Brookfield, que a su vez utiliza el software TexturePro CT V1.2. Build para la recopilación de los datos obtenidos en un archivo Excel.

Se midió la fuerza máxima de compresión antes del 80% de deformación de un cubo de gel de 1,25 [cm] por lado. Las mediciones fueron realizadas a temperatura ambiente y utilizando una sonda de 50 [mm] de diámetro a una velocidad de 0,3 [mm/s], basándose en un análisis de textura realizado a un gel de alginato por Muñoz et al. (1986).

3.2.9 Masticación simulada

Para simular la masticación humana se utilizó un masticador artificial que permite simularla, este fue construido en la Universidad Técnica Federico Santa María y consta de dos mandíbulas circulares de las cuales sólo posee un movimiento vertical la inferior, al igual que la boca humana. El masticador posee 44 piezas dentales, incluyendo molares y premolares. La mandíbula inferior posee un cono en su centro, intentando de cumplir la función de la lengua de acomodar la comida a medida es masticada.

Este masticador posee tres parámetros clave a ser variados: fuerza aplicada (0-200 N), ángulo de cizalle (desde 5°) y número de ciclos de masticación (0-50).

Para conocer la fuerza de masticación a aplicar fue necesario utilizar una relación entre la fuerza entregada por el análisis de textura realizado y la fuerza de masticación, esta relación fue extraída de la publicación “Bite Force displayed during assessment of hardness in varios texture contexts” de Mioche et al. (1994) en la cual se realizaron pruebas para distintos tipos de materiales con distintas durezas, relación que puede observarse en el la Figura 11, a raíz de esto la fuerza seleccionada para simular la masticación fue de 30 [N], un ángulo de cizalle de 5° y se variaron los ciclos de masticación en 3 niveles: bajo (5 ciclos), medio (10 ciclos) y alto (15 ciclos) , reacomodando la muestra cada 5 ciclos a modo de asemejar la función de la lengua en la masticación.

Cabe destacar que la muestra a masticar fue una cantidad de 10 cubos de 1,25 cm por lado, realizándose 5, las cuales dan el total de 50 cubos a utilizar durante la digestión *in-vitro*.

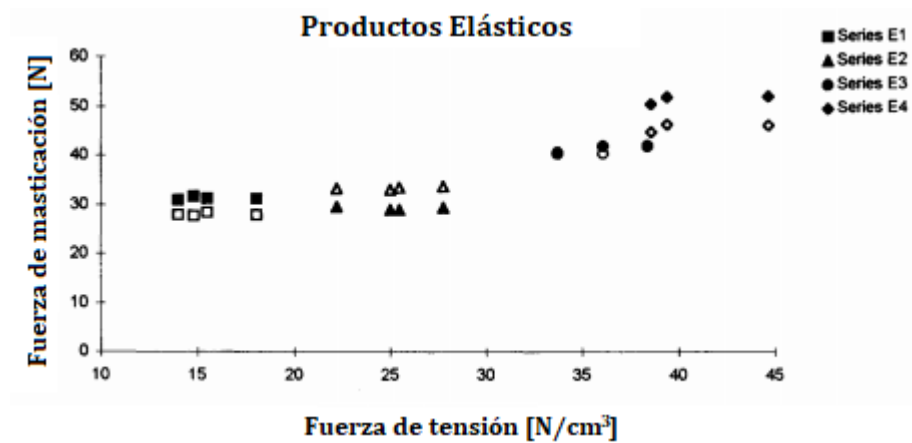


Figura 11: Relación entre fuerza de masticación y fuerza de tensión. (Mioche et al. 1994).

3.2.10 Validación masticador

Simular la masticación en la actualidad es posible, de hecho, dado el avance tecnológico existen variados equipos que simulan la masticación humana, algunos se asemejan más que otros a la realidad, por ello es necesario realizar una validación de datos para asegurar su similitud.

Se realizó la comparación entre la masticación efectuada a un cubo de gel de alginato de calcio con 3% en volumen de aceite en triplicado, utilizando el masticador artificial y contrastándolo con la masticación efectuada al mismo gel por una persona. Esto se realizó en triplicado para cada número de ciclos de masticación (5, 10 y 15) que son los mismos utilizados durante las pruebas realizadas.

Luego de esto, se procedió a realizar un análisis de imagen utilizando un scanner modelo LiDE110 marca Cannon, el cual permite generar una imagen digital con la cual podrá determinarse el tamaño de partícula final de cada cubo masticado, con esta información se comparó el número y diámetro de partículas finales de la masticación artificial versus la humana.

3.2.11 Distribución tamaño partículas alimento masticado

Luego de realizadas las masticaciones del alimento modelo en triplicado (para 5, 10 y 15 ciclos de masticación), se midieron sus tamaños de partícula una vez masticados, esto se realizó por medio de un análisis de imagen utilizando un scanner modelo LiDE110 marca Cannon, según procedimiento descrito por Millón (2014).

La imagen fue posteriormente analizada en el software Image-Pro Plus, utilizando la herramienta de binarización de imagen, con la cual se pudo determinar el diámetro medio (d_{50}) (dado que no se justifica el cálculo de un promedio al no ser las partículas de iguales proporciones), el cual corresponde al diámetro bajo el cual se encuentra el 50% del total de las partículas, esta medida se realizó en triplicado.

3.2.12 Digestión *in vitro* usando pHstat

Para la digestión *in vitro*, se basó el método en el utilizado por Li et al. (2010) con la diferencia de que se digieren geles y no emulsión líquida, todas las cantidades fueron escaladas a la cantidad de muestra a digerir (50 cubos),

El modelo de digestión es el siguiente, utilizando como digestor el G20S Compact Titrator de Mettler Toledo, con la solución sumergida en un baño termostático a 37°C, utilizando como titulador NaOH a 0.15 [M]:

50 cubos de alimento modelo, los cuales corresponden a 70 [mL] en 52.5 [mL] de solución de extracto de bilis (2625 [mg] disueltos en buffer fosfato pH7), 3.5 [mL] de solución de CaCl₂ (575 [mM] en agua destilada), 3.5 [mL] de solución de NaCl (5625 [mM] en agua destilada), mezcla previamente ajustada a pH 7. Al momento de iniciar la medición se agrega 5.25 [mL] de suspensión de lipasa (315 [mg] en buffer fosfato) a la solución.

Una vez cargado, debe preagitar para mezclar de manera homogénea los jugos gástricos junto con el alimento en un agitador magnético y poder de esa manera homogeneizar también el pH, el cual se ajusta a 7 con NaOH al 0.15 [M] (registrándose este valor) antes de hacer ingreso a la enzima. Luego se carga el método a utilizar (pHstat) el cual sigue la siguiente secuencia lógica: preagitado por 10 segundos sin medir con el fin de preparar la enzima para su adición, luego inicia el monitoreo del volumen agregado de titulador en [mL], entregando un dato medido por cada segundo de digestión, mientras el pH no baje de 7, el titulador no añadirá más NaOH, si este baja, el titulador será añadido, esto durante 7200 segundos, pudiendo al final guardar los 7200 datos de volumen entregados por el programa al terminar el método.

En resumen, este proceso fue monitoreado por 2 horas (7200 segundos), midiendo la cantidad de NaOH agregado a la solución para mantener el pH a 7, añadiendo alícuotas a medida el pH decrece al digerir los lípidos disponibles con la lipasa.

3.2.13 Análisis digestión de lípidos

El titulador G20S entrega como resultado el volumen de NaOH agregado durante la digestión para mantener el pH en 7, contrarrestando el efecto de la lipólisis, pudiéndose de esta manera, determinar los moles utilizados de titulador y por consiguiente determinar los moles liberados de lípidos a medida que pasa el tiempo de digestión (7200 segundos).

3.2.14 Cálculo porcentaje de hidrólisis de lípidos durante la digestión *in vitro*

Para obtener el porcentaje degradado de lípidos se calcula la razón de moles degradados (expresados como su equivalente en NaOH), considerando la formación de 2 ácidos grasos por triglicérido, sobre los moles totales

provenientes del alimento, como se observa en la ecuación (1) (Li & McClements, 2010):

$$\%Hidrólisis = \frac{V_{NaOH} \cdot [M]_{NaOH} \cdot PM_{aceite}}{2 \cdot \rho_{aceite} \cdot v_{aceite}} \cdot 100 \quad (1)$$

Siendo:

- V_{NaOH} : Volumen en [L] de NaOH consumido durante la digestión
- $[M]_{NaOH}$: Concentración de NaOH en [M]
- PM_{aceite} : Peso molecular del aceite de soya en [g/mol]
- ρ_{aceite} : Densidad del aceite de soya en [g/mL]
- v_{aceite} : Volumen de aceite de soya dispersado en el medio en [mL]

Se adjunta un cálculo a modo de ejemplo en el Anexo 1.

3.2.15 Diseño de experimentos

Se realizaron pruebas para determinar el efecto de la masticación en la digestión *in vitro*, variando los ciclos de masticación de geles de alginato de calcio con aceite de soya, para esto se utilizaron 5, 10 y 15 ciclos, cada experimento en triplicado.

Adicionalmente a estas pruebas, se realizaron pruebas base, las cuales corresponden a la digestión de la emulsión en estado líquido y el gel sin la adición de emulsión, de modo de tener en conocimiento los comportamientos máximos y mínimos de la hidrólisis, por otro lado, una prueba de digestión de geles sin masticación también fue realizada. Siendo finalmente un total de 15 experimentos.

Para determinar el efecto de las microcápsulas, se realizó la digestión *in vitro* en triplicado. El resumen de las experiencias se observa en la Tabla 5:

Tabla 5: Set de experimentos realizados

Experimento	Descripción
1	Gel - 5 ciclos masticación
2	Gel - 5 ciclos masticación
3	Gel - 5 ciclos masticación
4	Gel - 10 ciclos masticación
5	Gel - 10 ciclos masticación
6	Gel - 10 ciclos masticación
7	Gel - 15 ciclos masticación
8	Gel - 15 ciclos masticación
9	Gel - 15 ciclos masticación
10	Emulsión
11	Gel – sin aceite
12	Gel – 0 ciclos de masticación
13	Microcápsulas
14	Microcápsulas
15	Microcápsulas

CAPÍTULO 4: ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 POTENCIAL Z EMULSIONES

Luego de realizadas 11 mediciones de potencial Z de diferentes emulsiones, en diferentes fechas, los cuales pueden observarse en el Anexo 2, se obtuvo un potencial Z promedio de $-21,0 \pm 2,0$ [mV], valor que se encuentra bajo los -15 [mV], lo cual indica una emulsión muy estable y que se encuentra entre los resultados reportados en la publicación “Formation and sability of paraffin oil-in-water nano-emulsions” en la cual se representa el potencial zeta como una función del pH en el cual valores de entre 10 y -60 , siendo -15 [mV] uno reportado que se asemeja al obtenido por Liu et al. (2006).

4.2 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO GOTAS DE ACEITE

Luego de realizadas 18 mediciones de tamaño de partícula de diferentes emulsiones, en diferentes fechas, las cuales pueden observarse en detalle en el Anexo 3, se obtuvo un tamaño de gota promedio de $108,48 \pm 5,22$ [nm], lo cual concuerda con los resultados reportados por Silva et al. (2013) que obtuvieron tamaños entre 80 y 120 [nm] para condiciones similares de emulsión de aceite de maíz en agua y de aceite de oliva en agua.

A continuación, se observa el histograma obtenido a partir de los valores obtenidos:

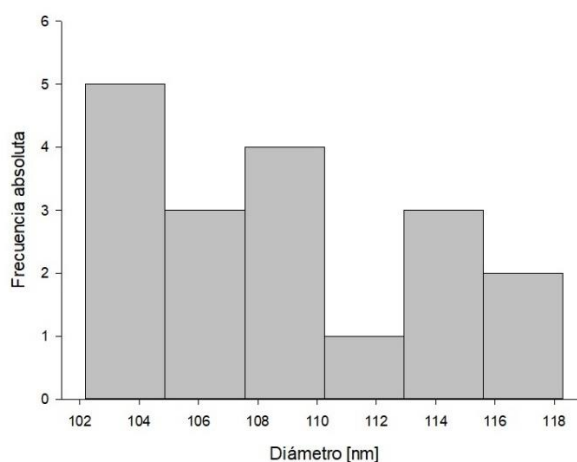


Figura 12: Histograma del tamaño de gota de aceite en la emulsión.

4.3 VALIDACIÓN MASTICADOR

Se considera válida la simulación realizada por el masticador, ya que las diferencias entre la masticación humana y la simulada en la cantidad de partículas obtenidas luego de la masticación son mínimas, obteniéndose 6, 9 y 14 para el caso de 5, 10 y 15 ciclos de masticación simulada, con respecto a 6, 10 y 13 para los 5, 10 y 15 ciclos de masticación humana, esto se puede apreciar más a detalle en el Anexo 4.

4.4 ANÁLISIS DE TEXTURA

Luego de realizados 12 análisis de textura de diferentes muestras, los resultados pueden observarse en detalle en el Anexo 5, se obtuvo un valor de $16,26 \pm 1,58$ [N]. Esto corresponde a un valor similar al de una gomita en forma de oso, el cual se encuentra entre 15,7 y 20,5 N (Shimadzu).

4.5 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO MICROCAPSULAS

Se tomaron microcápsulas secas, las cuales fueron escaneadas (Anexo 7), y analizadas para determinar el diámetro de ellas, el cual fue en promedio de 1,25 [mm], con una desviación estándar de 0,20 [mm], valor incluso menor al reportado por Chan et al. (2011) de aproximadamente 2 [mm].

A continuación, una gráfica con el histograma de los resultados obtenidos para los tamaños de microcápsula:

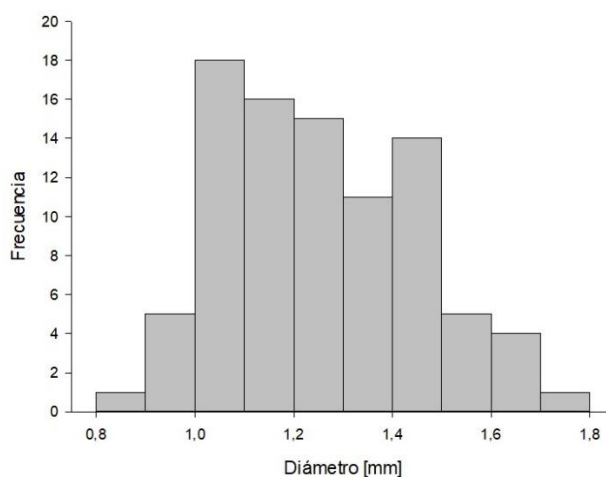


Figura 13: Histograma tamaño de microcápsulas.

4.6 EFICIENCIA MICROENCAPSULACIÓN

Se obtuvo una eficiencia de un 68,67% en la microencapsulación de aceite de soya, a partir de la solución de alginato/aceite (20% p/p alginato/ 40% p/p de aceite).

4.7 HUMEDAD MICROCAPSULAS

Se obtuvo una humedad promedio de 4,51% y una desviación estándar de 0,20%, los valores específicos pueden observarse en el Anexo 6.

4.8 DISTRIBUCIÓN TAMAÑO PARTÍCULA ALIMENTO MASTICADO

Se realizaron masticaciones de 10 cubos para los distintos ciclos de masticación a utilizar (5,10 y 15), estas masticaciones se realizaron en triplicado para cada número de ciclos, luego de escaneadas las imágenes (las cuales pueden observarse en el Anexo 8), se calculó el diámetro medio para cada set de datos considerando el d_{50} (diámetro bajo el cual se encuentra el 50% de las partículas), dando como resultado lo expuesto en la Tabla 6:

Tabla 6: D_{50} para los diferentes ciclos de masticación.

Experimento	D_{50} [mm]	Nº de partículas
5	18,05 ± 1,88 ^a	22 ± 2
10	14,24 ± 0,72 ^b	35 ± 1
15	10,73 ± 0,98 ^c	64 ± 8

*letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa $p < 0,05$

Como puede apreciarse en los resultados obtenidos, existe una clara relación entre el tamaño de partícula y el número de ciclos de masticación, así como también con la cantidad de partículas, las cuales fueron en promedio de 22, 35 y 64 unidades respectivamente. De modo que a una mayor cantidad de masticaciones se obtienen más partículas y de menores tamaños.

A continuación, se muestran los histogramas para los tres ciclos de masticación utilizados correspondientes a 1 de las réplicas de cada uno.

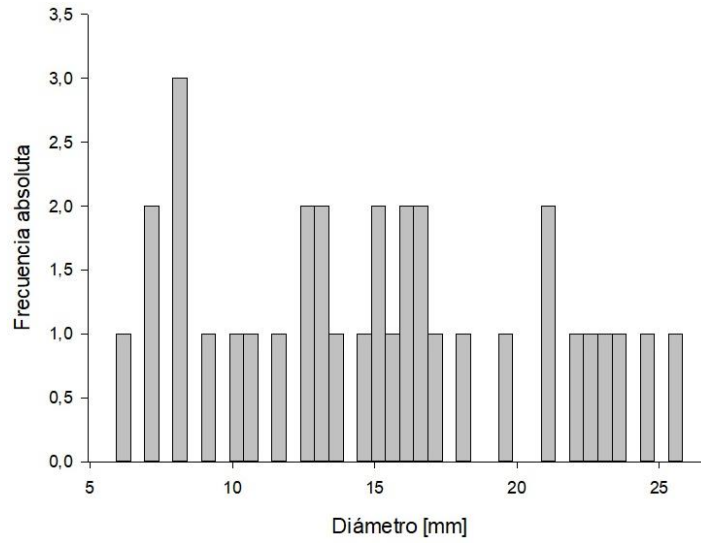


Figura 14: Histograma tamaño partícula masticada con 5 ciclos de masticación.

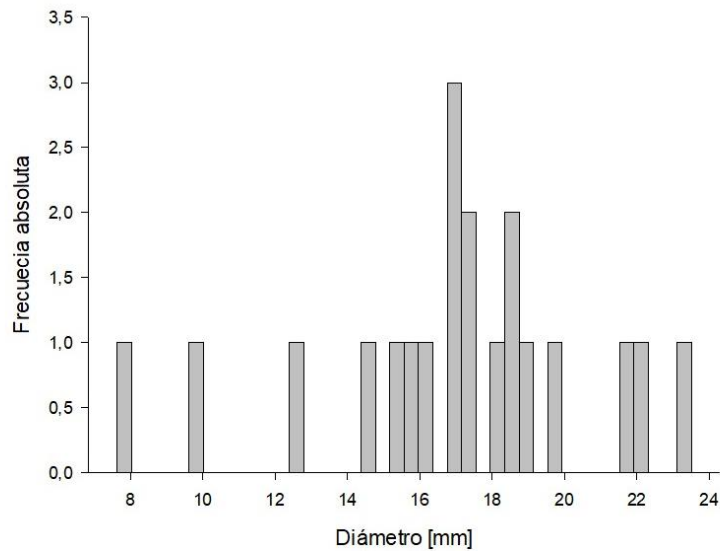


Figura 15: Histograma tamaño partícula masticada con 10 ciclos de masticación.

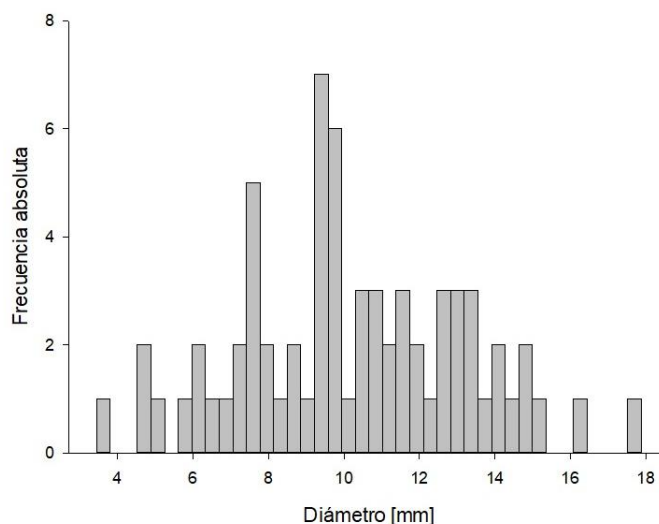


Figura 16: Histograma tamaño partícula masticada con 15 ciclos de masticación.

4.9 DIGESTIÓN *IN-VITRO* DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES

Como se mencionó anteriormente, se realizaron pruebas base para conocer el límite superior e inferior de las curvas de hidrólisis, el límite superior fue considerado como la hidrólisis de la emulsión en estado líquido, para esto la cantidad de NaOH liberado durante la digestión fue de 60,0 [mL], lo cual se traduce en un 68,4% de ácidos grasos libres liberados (ver Figura 18, 19 y 20).

Se pudo observar que la hidrólisis inició rápidamente, alcanzando superar el 50% antes de los 3 minutos, lo cual demuestra que la acción de la lipasa provocó una rápida baja en el pH al momento de degradar el aceite de soya presente en la emulsión, observándose de esta manera que el aceite se encontraba altamente disponible para ser degradado. En este caso, la hidrólisis se ve afectada únicamente por la velocidad de la reacción.

Como caso base, se experimentó la digestión de una muestra de geles de alginato sin presencia de emulsión, de modo de poder contabilizar el volumen efectivo de NaOH de cada hidrólisis por medio de la resta del volumen base, que corresponde al volumen liberado únicamente por el alginato presente en los geles y no por la hidrólisis de los lípidos, los resultados de este caso base se pueden observar en la Figura 17.

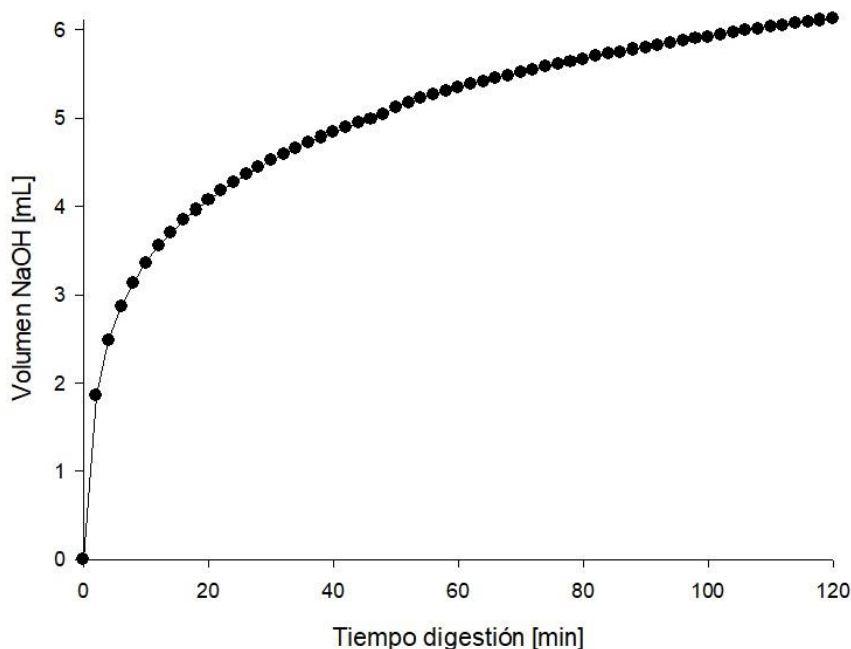


Figura 17: Volumen de NaH liberado durante digestión in-vitro de geles de alginato al 20% p/p sin presencia de emulsión.

Se observa en la Figura 17 que se libera NaOH a medida ocurre la digestión, esto es debido a una baja de pH producida por la disolución de los geles de alginato en el medio, puede observarse que el volumen liberado al final de los 120 minutos de digestión fue de 6,1 [mL].

Dado que las muestras a monitorear corresponden a geles de alginato con emulsión, el volumen reportado por el pHstat debe ser modificado, ya que se debe restar el volumen de NaOH liberado por la digestión del gel sin emulsión al volumen total.

Como se quiere observar el efecto de la masticación en la digestión, se realizó una experiencia con el caso base de gel con emulsión, pero sin masticación, se observa que la presencia de geles de alginato afecta de gran manera a la biodisponibilidad del aceite de soya, la diferencia entre el límite superior (caso de digestión con emulsión líquida), siendo mucho menor en este último caso, demostrándose que la presencia de alginato se traduce en una disminución de la velocidad de la hidrólisis, alcanzándose un 46,7% de lípidos hidrolizados versus un 68,4% en el caso de la emulsión líquida (ver Figura 18, 19 y 20). En este caso, la hidrólisis se ve afecta tanto por la velocidad de la reacción, como por la disolución del alginato. En otras palabras, la presencia de alginato en la muestra genera una disminución de la biodisponibilidad del aceite de soya para su digestión.

Para observar si la cantidad de ciclos de masticación produce algún efecto, se estudiaron los casos de digestión de geles con emulsión y diversos ciclos

masticación (5,10 y 15), esto se realizó en triplicado, a los cuales se les denominó GN (Gel No encapsulado), y A, B, C para cada set de datos, pudiéndose observar los resultados en las Figura 18, 19 y 20. En todas las réplicas fue posible observar el mismo comportamiento, pudiéndose distinguir dos fases en cada una de ellas.

La primera fase entre los 0 y 33 minutos, en la cual se observa un comportamiento similar al del gel sin masticación, pero más rápido, por ello, en esta fase se observa que la hidrólisis presenta una curvatura que representa la disolución de los cubos de alginato con emulsión, de modo que esto disminuye la velocidad de la degradación de lípidos hasta que alcanza la segunda fase. Fase que ocurre entre aproximadamente los 33 y 120 minutos, fase en la cual el comportamiento cambia, asimilándose al comportamiento de la digestión realizada con la emulsión líquida, el cual se podría explicar como la fase en la cual todo el alginato fue disuelto, de modo que el aceite de encuentra mayormente biodisponible para su degradación.

Por otro lado, si bien se observa un comportamiento similar, al aumentar los ciclos de masticación se observa que la fase 2, la cual representa la fase rápida de la reacción, inicia antes, generando un aumento en la hidrólisis en los primeros segundos, no así al finalizar. Para el análisis de estos datos, se considerará solamente la fase 1 de la hidrólisis, debido a que la fase dos es similar para los tres ciclos de masticación, y en teoría, deberían alcanzar porcentajes de hidrólisis semejantes luego de un largo tiempo de degradación.

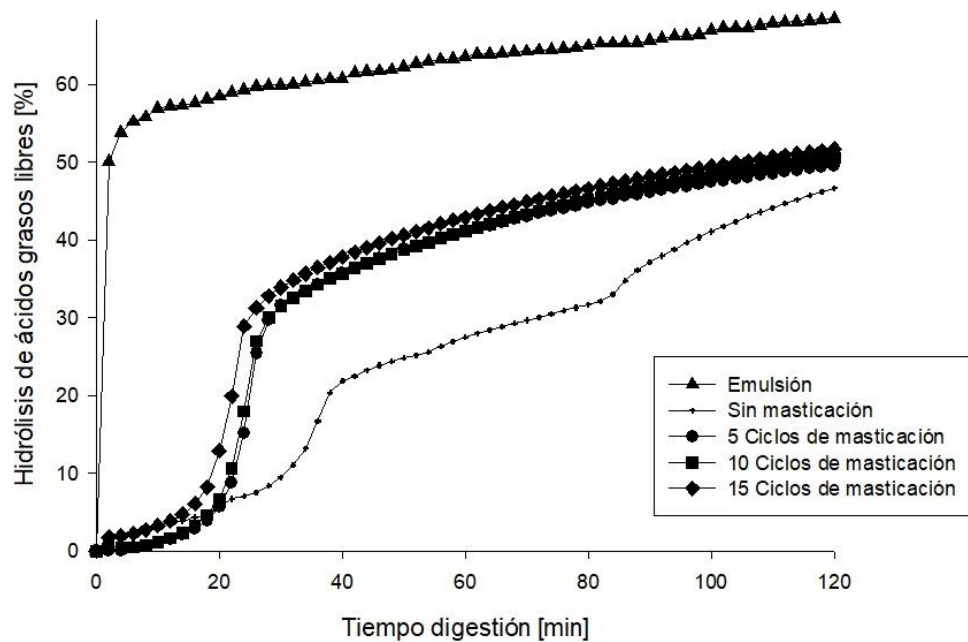


Figura 18: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro – GNA para gels con 5, 10 y 15 ciclos de masticación

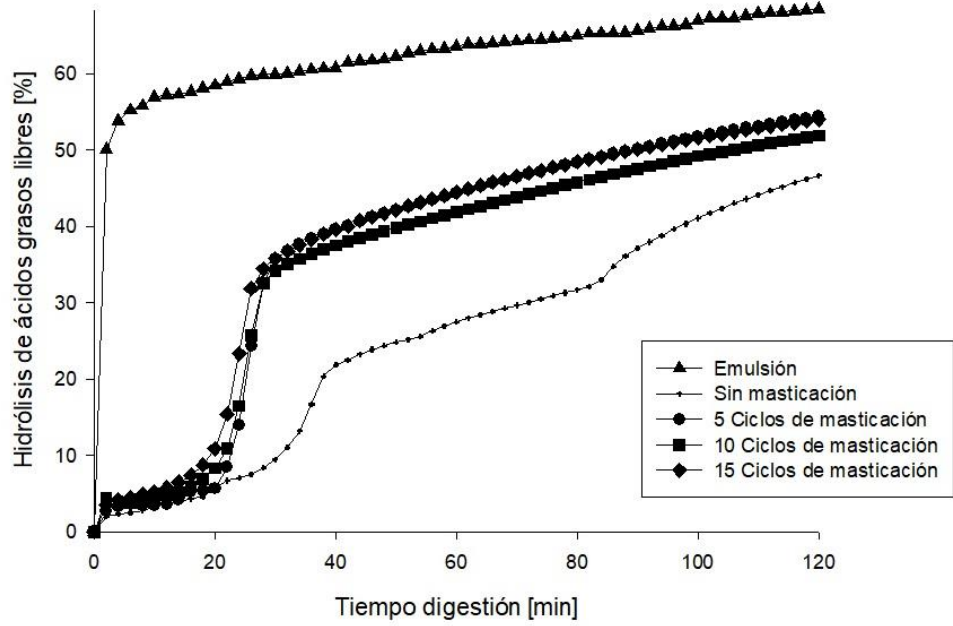


Figura 19: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro - GNB para geles con 5, 10 y 15 ciclos de masticación

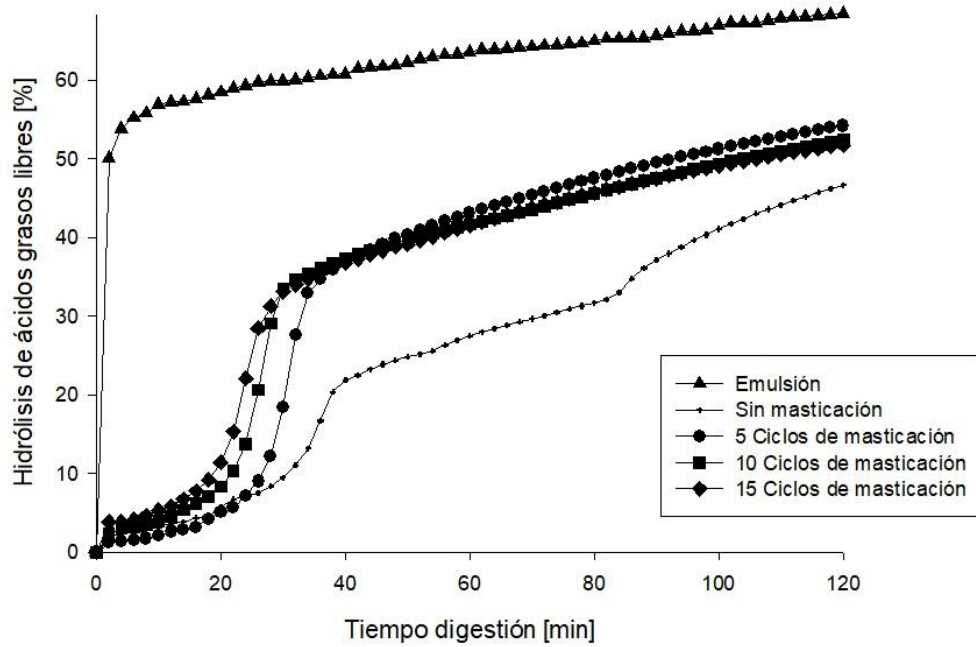


Figura 20: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión in-vitro - GNC para geles con 5, 10 y 15 ciclos de masticación

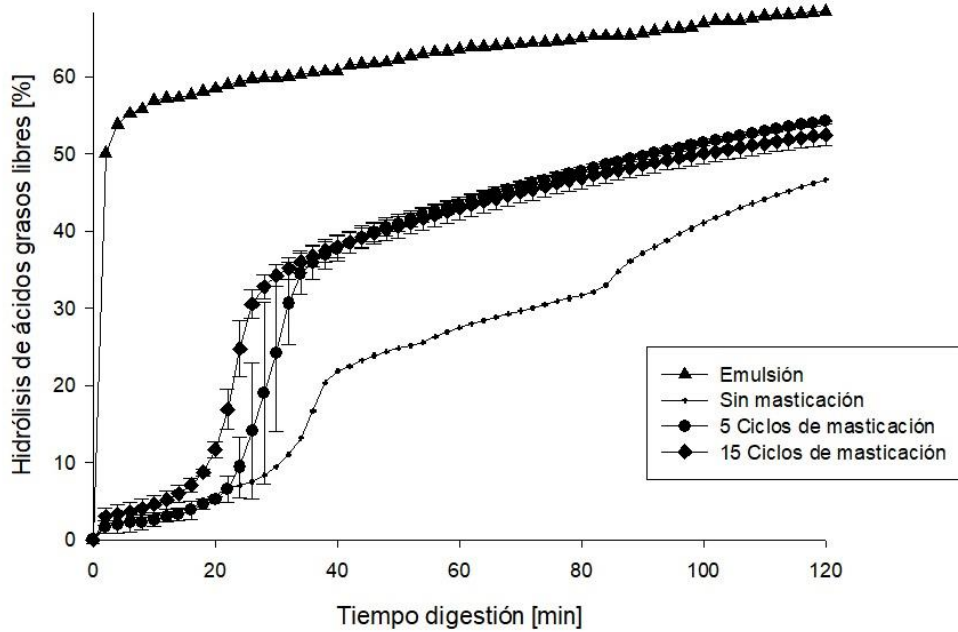


Figura 21: Hidrólisis de ácidos grasos libres representadas con sus barras de error para geles con 5 y 15 ciclos de masticación.

A grandes rasgos, se observa una gran diferencia las muestras masticadas y las no masticadas, demostrándose que el hecho de masticar el alimento produce un efecto altamente notorio en la degradación del mismo durante la digestión (promedio de 52,3% de hidrólisis para alimento masticado vs un 46,78% para el mismo alimento pero sin masticación), pero es importante mencionar que la diferencia entre 5 y 10, y 10 y 15 ciclos de masticación no es significativa, pudiéndose encontrar una más notoria diferencia entre los ciclos 5 y 15 de masticación, en los cuales se observa una fase 1 más rápida, de modo que el aceite de soya se vuelve más biodisponible para su digestión si es masticado más veces, como puede observarse en la Figura 21.

Se puede encontrar una relación entre los ciclos de masticación y el tamaño de partículas, y a su vez, entre el tamaño de partícula y el porcentaje de hidrólisis del alimento. Esta relación podría ser cuantificada por medio de un modelo matemático, el cual contaría con las llamadas fase 1 y fase 2, las cuales podrían ser deducidas por medio del previo modelamiento de la reacción de hidrólisis de la emulsión líquida (su velocidad de reacción y presencia o no de inhibidores) y del conocimiento de la liberación de aceite en el medio durante la hidrólisis.

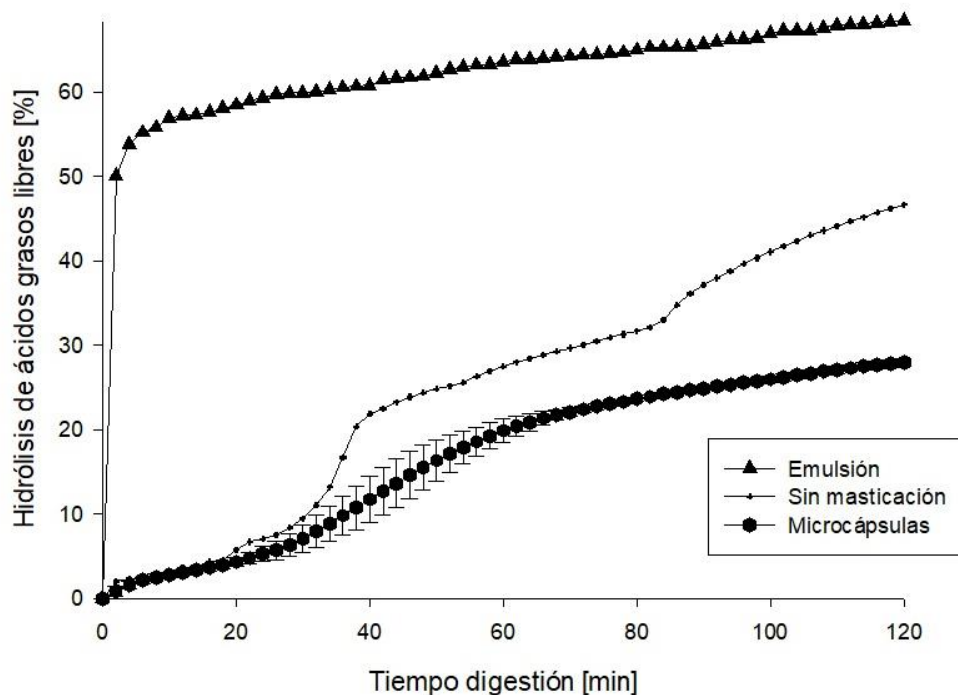


Figura 22: Hidrólisis de ácidos grasos libres durante digestión *in vitro* de microcápsulas.

Con respecto a las microcápsulas, se obtuvieron los resultados visibles en la Figura 22, utilizando 7,68 [g] de microcápsulas secas, cuya carga presente de aceite de soya fue equivalente a la presente en las muestras de geles utilizadas en las experiencias anteriormente mencionadas, los resultados fueron corregidos con la curva base de alginato.

Las tres réplicas de este experimento concluyeron en un resultado y comportamiento similar, resultando finalmente, en promedio, en un 28,0% de hidrólisis. Además, se puede apreciar que el comportamiento de estas curvas es similar al del alimento sin masticación, pero con un porcentaje de hidrólisis significativamente menor (aproximadamente un 18,7% menos para el caso de microcápsulas), lo cual da cuenta de que la encapsulación del aceite genera una barrera extra a la liberación de aceite de soya en el ambiente *in-vitro*, demostrándose de esta manera que la microencapsulación genera una disminución en la hidrólisis del aceite de soya en la digestión *in-vitro* con respecto al aceite de soya tanto en gel como en emulsión.

Cabe destacar que las microcápsulas digeridas *in vitro* corresponden a microcápsulas secas con un porcentaje de humedad del 4,51%, de modo que la liberación de aceite desde las microcápsulas se ve afectada por esto, pudiéndose haber generado una hidratación de las microcápsulas y luego la liberación del aceite dentro de las mismas, lo que pudo haber sido la causa de una hidrólisis aún más lenta.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

5.1 CONCLUSIONES

A través de este estudio se logró validar la hipótesis, ya que se demostró que la masticación afecta el tamaño de partícula, obteniéndose diferentes diámetros medios de partícula masticada, 18,05, 14,24 y 10,73 [mm] para 5, 10 y 15 ciclos de masticación respectivamente, lo cual repercute en el grado de exposición de los lípidos incorporados como emulsión dentro del alimento, viéndose así modificada la cinética de la digestión durante los ensayos *in-vitro* realizados durante la realización de esta memoria, pudiéndose distinguir en cada uno de los ensayos, un comportamiento similar, con dos fases claramente demarcadas, siendo la llamada fase 1 afectada por el tamaño de partícula del alimento masticado (primeros 33 minutos aproximadamente), haciendo más rápida la cinética de reacción a medida se aumentan los ciclos de masticación, más aún, se demostró claramente que el hecho de masticar el alimento modelo repercute altamente en el porcentaje de hidrólisis alcanzado al finalizar la digestión *in-vitro*, de modo que se instala a la masticación como una parte del proceso digestivo que permite hacer el alimento más biodisponible para su absorción en el intestino delgado.

Además, se confirma que la microencapsulación también afecta también el grado de exposición de los lípidos durante la digestión *in-vitro*, obteniéndose, para una misma cantidad de aceite ingresado, un 18,8% menos de hidrólisis comparado al alimento modelo sin masticación. Lo cual ocurre debido al cambio de matriz alimentaria, ya que a pesar de que en cada estado (líquido, gel y microcápsula) existe una misma cantidad de lípidos (aceite de soya), la absorción de estos durante la digestión *in vitro* demostró ser diferente y dependiente de la estructura del alimento modelo.

De esto se puede concluir que el hecho de estructurar un alimento, ya sea por medio de gelificación o microencapsulación, permite controlar la velocidad con la que se hidrolizan los ácidos grasos libres, lo cual podría traducirse en el aumento de la saciedad producida por el alimento en un individuo.

5.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar pruebas que permitan poder modelar la hidrólisis de lípidos con emulsión, para poder obtener parámetros cinéticos que permitan la generación de un modelo matemático que involucre tanto los parámetros cinéticos como el tamaño de partícula.

También es recomendable realizar estudios de como afecta la cantidad de emulsión añadida al gel y microcápsulas en la digestión *in vitro*, así como también realizar una serie de pruebas que permitan demostrar como afecta realmente la masticación, llevando los ciclos de masticación desde el 0 hasta donde sea posible, para poder determinar en qué punto la masticación comienza a hacer una diferencia del gel no masticado, hasta el punto en que deje de diferenciarse a la emulsión líquida, ya que probablemente se pueda llegar desde el punto base (gel sin masticación) hasta el punto máximo (digestión emulsión no gelificada).

CAPÍTULO 6: REFERENCIAS

- Agrawal, K., Lucas, P., Prinz, B., & Prinz, J. (1998). Food Properties that Influence Neuromuscular Activity During Human Mastication. *Journal of Dental Research*, 1931-1938. doi:10.1177/00220345980770111101
- American Dietetic Association. (2008). El aparato digestivo y su funcionamiento. *National digestive Diseases Information Clearinghouse*.
- Avendaño, G., López, A., Palou, M., & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 7, 87-96. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>
- Benito-Gallo, P., Franceschetto, A., Wong, J., Marlow, M., Zann, V., Scholes, P., & Gershkovich, P. (2015). Chain length affects pancreatic lipase activity and the extent and pH-time profile of triglyceride lipolysis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Volumen 93, 353-362. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.04.027>
- Brown, D. M. (2004). *Drug Delivery Systems in Cancer Therapy*. (D. M. Brown, Ed.) Totowa, New Jersey: Human Press.
- Burton-Freeman, B. (2000). Dietary fiber and energy regulation. *Journal of Nutrition*, 130(2), 272s - 275s. doi:10.1038/ejcn.2013.231
- Chan, E. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate Polymers Journal*, Volumen 84, 1267-1275. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.01.015>
- Engelen, L., Fontijn-Tekamp, A., & Van der Bilt, A. (2015). The influence of product and oral characteristics on swallowing. *Archives of Oral Biology*, 739-746. doi:10.1016/j.archoralbio.2005.01.004
- Flynn, C., Foster, K., Bronlund, J., Lentle, R., Jones, J., & Morgenster, M. (2011). Identification of multiple compartments present during the mastication of solid food. *Archives of Oral Biology Journal*, Volumen 56, 345-352. doi:<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.10.010>
- Gunstone, F. D. (2002). *Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses*. Blackwell Publishing.
- Gupta, A., & Dey, B. (2012). Microencapsulation for controlled drug delivery: A comprehensive review. *Sunsari Technical College Journal*, Volume 1, 48-54.

- Helmenstine, A. (2017). *thoughtco.com*. Obtenido de *thoughtco.com*: <https://www.thoughtco.com/definition-of-zeta-potential-605810>
- Hernández, M., López, G., & García, A. (2005). Evaluación de derivados carboximetilados del alginato de sodio como superabsorbente. *Revista Cubana de Química, Volumen XVII*(Número 3), 239-240.
- Kong, F., & Sigh, R. (2008). Disintegration of Solid Foods in Human Stomach. *Journal of Food Science, Volumen 73*(Número 5), R67-R80. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00766.x.
- Kosegarten-Conde, C., & Jiménez-Munguía, M. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsion doble. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 1-18. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Kosegarten-Conde-et-al-2012.pdf>
- Lakkis, J. M. (2007). *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. (J. M. Lakkis, Ed.) Blackwell Publishing. doi:Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems
- Li, Y., & McClements, D. (2010). New Mathematical Model for Interpreting pH-Stat Digestion Profiles: Impact of Lipid Droplet Characteristics on in Vitro Digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volumen 58*, 8085-8092. doi:10.1021/jf101325m
- Liu, W., Sun, D., Li, C., Liu, Q., & Xu, J. (2006). Formation and stability of parafin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 557-563. doi:10.1016/j.jcis.2006.07.055
- Low, D., D'Arcy, B., & Gidley, M. (2014). Mastication effects on carotenoi bioaccessibility from mango fruit tissue. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2014.11.01
- Lupo, B., González, C., & Maestro, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 130-151. Obtenido de <http://www.rvcta.org>
- Millon, C. (2014). *Efecto de la estructura de los alimentos en la masticación y biodisponibilidad de nutrientes*.
- Mioche, L., & Peyron, M. A. (1994). Bite Force displayed during assessment of hardness in various texture contexts. *Archs oral Biol.*, 40(5), 415 - 423. doi:[https://doi.org/10.1016/0003-9969\(94\)00190-M](https://doi.org/10.1016/0003-9969(94)00190-M)
- Miquel-Kergoat, S., Azais-Braesco, V., Burton-Freeman, B., & Hetherington, M. (2015). Effects of chewing on appetite, food intake and gut hormones:

- A. *Physiology & Behavior*, *Volumen 151*, 88-96.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.07.017>
- Muhamad, I. I., Quin, C. H., & Selvakumaran, S. (2015). Preparation and evaluation of water-in-soybean oil-in-water emulsions by repeated premix membrane emulsification method using cellulose acetate membrane. *Journal food science and technology*. doi:10.1007/s13197-015-2107-6
- Muñoz, a., Pagborn, R., & Noble, A. (1986). Sensory and mechanical attributes of gel texture. II. Gelatin Sodium Alginate and Kappa-Carrageenan Gels. *Journal of Texture Studies*, *Volumen 1*, 17-36.
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1986.tb00711.x>
- Parada, J., & Aguilera, J. (2007). Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Concise Reviews and Hypotheses in Food Science*, *Volumen 72*(Número 2), R21-R32. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x
- Parra, R. (2011). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *Volumen 63*, 5669-5684.
doi:10.15446/rfnam
- Perez, Y. (2018). *eldietista.es*. Obtenido de *eldietista.es*:
<https://eldietista.es/blog/curso-nutricion-dietetica/absorcion-de-nutrientes>
- Perrechil, F. A., & Cunha, R. L. (2010). Oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate: Influence of pH, high-pressure homogenization and locust bean gum addition. *Journal of Food Engineering*, 441-448.
doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.10.041
- Peyron, M.-A., & Woda, A. (2017). An update about artificial mastication. *Current Opinion Science*, *Volumen 9*, 21-28.
doi:10.1016/j.cofs.2016.03.006
- Ranawana, V., Leow, M.-S., & Henry, C. (2013). Mastication effects on the glycaemic index: impact on variability and practical implications. *European Journal of clinical Nutrition*, *Volumen 68*, 137-139.
doi:10.1038/ejcn.2013.231
- Santos, M. G., Bozza, F. T., Thomazini, M., & Favaro-Trindade, C. S. (2014). Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex. *Food Chemistry*, *171*, 32-39.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.093>
- Shimadzu. (s.f.). *Material Test*. Duisburg, Alemania.

- Sigma-Aldrich. (2018). *Sigmaaldrich.com*. Obtenido de Sigmaaldrich.com: https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/COfAInfo/SigmaSAPQM/SP-EC/P1/P1754/P1754-BULK____SIAL____.pdf
- Silva, A. E., Barratt, G., Chéron, M., & Egito, E. S. (2013). Development of oil-in-water microemulsions for the oral delivery of amphotericin B. *International Journal of Pharmaceutics*. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.05.044>
- Turgeon, S. L., & Rioux, L.-E. (2011). Food matrix impact on macronutrients nutritional properties. *Food Hydrocolloids*, 25, 1915 - 1924. doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.026
- Yagmur, A., Aserin, A., Mizrahi, Y., Nerd, A., & Garti, N. (1999). Argan Oil-In-Water Emulsions: Preparation and Stabilization. (A. Press, Ed.) *Journal of the American Oil Chemists*, 76(1), 15-18.
- Zouboulis, A. I., & Avranas, A. (2000). Treatment of oil-in-water emulsions by coagulation and dissolved-air flotation. *Colloids and Surfaces*, 153-161.

CAPÍTULO 7: ANEXOS

Anexo 1: Ejemplo cálculo curva hidrólisis

El valorador G20s entrega un valor de volumen de NaOH en el sistema cada 1 segundo de digestión, es decir, para las 2 horas, se generan 7200 valores puntuales de NaOH (con 3 decimales).

Destacar que el volumen de NaOH ingresado a la ecuación corresponde al volumen entregado por el software menos el volumen entregado por el estado base de gel de alginato sin aceite. La tabla de resultados se visualiza de esta manera:

Tabla N° 7: Tabla ejemplo del cálculo de liberación de ácidos grasos libres.

V_{equipo} [mL]	V_{base} [mL]	$V_{\text{corregido}}$	t [s]	%Hidrólisis
0	0	0	0	0
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
0,862	0,81	0,052	17	0,0606
1,01	0,811	0,199	18	0,232
1,152	0,814	0,338	19	0,394
1,32	0,818	0,502	20	0,585
1,488	0,824	0,664	21	0,774
1,505	0,834	0,671	22	0,783
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
53,792	6,125	47,667	7199	55,544
53,793	6,125	47,668	7200	55,545

Para esta tabla se genera una columna para el cálculo de la liberación de ácidos grasos libres, utilizando la ecuación (1), punto a punto, de la siguiente manera (ejemplo para tiempo 7200 de la Tabla 7):

$$\%Hidrólisis = \frac{V_{NaOH} \cdot [M]_{NaOH} \cdot PM_{aceite}}{2 \cdot \rho_{aceite} \cdot v_{aceite}} \cdot 100$$

$$\%Hidrólisis = \frac{\frac{47,668}{1000} \left[\frac{mL}{mL/L} \right] \cdot 0,15 \left[\frac{moles}{L} \right] \cdot 277,9 \left[\frac{g}{mol} \right]}{2 \cdot 0,9175 \left[\frac{g}{mL} \right] \cdot 1,95 [mL]} \cdot 100 = 55,545\%$$

Finalmente se grafican las columnas de volumen corregido versus tiempo pudiéndose obtener el perfil de liberación de ácidos grasos libres durante la digestión.

Anexo 2: Mediciones de potencial Z emulsiones

Tabla 8: Mediciones Potencial Z emulsiones. Nanosizer, todas en diferentes emulsiones.

Medición	Potencial [mV]
1	-20,7
2	-20,1
3	-21,7
4	-21,8
5	-22,8
6	-18,8
7	-20,2
8	-20,4
9	-24,3
10	-24,1
11	-25,5
Promedio	-21,9
Desviación estándar	2,0

Anexo 3: Mediciones de tamaño de gota emulsión

Tabla 9: Mediciones Tamaño partícula emulsiones. Nano sizer, todas en diferentes emulsiones.

Medición	D ₅₀ [nm]
1	118,3
2	113,9
3	117,8
4	110,6
5	114,7
6	113,1
7	104,88
8	103,36
9	103,98
10	102,29
11	102,19
12	102,44
13	105,66
14	108,17
15	107,67
16	108,36
17	108,49
18	106,8
Promedio	108,48
Desviación estándar	5,22

Anexo 4: Mediciones Validación Masticador

Anexo 4.1: 5 ciclos de masticación

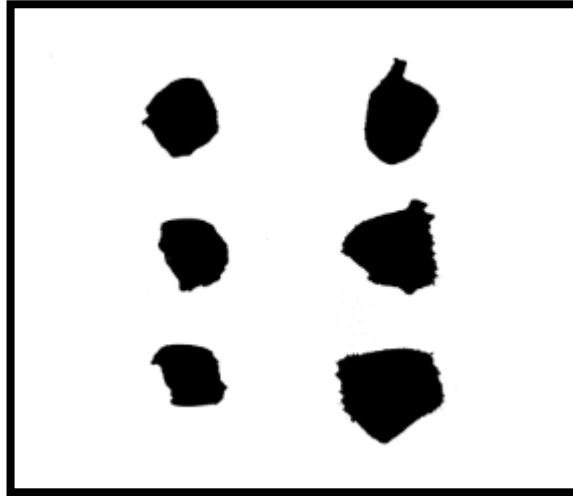


Figura 23: 5 ciclos de masticación humana



Figura 24: 5 ciclos de masticación simulada.

Anexo 4.1: 10 ciclos de masticación

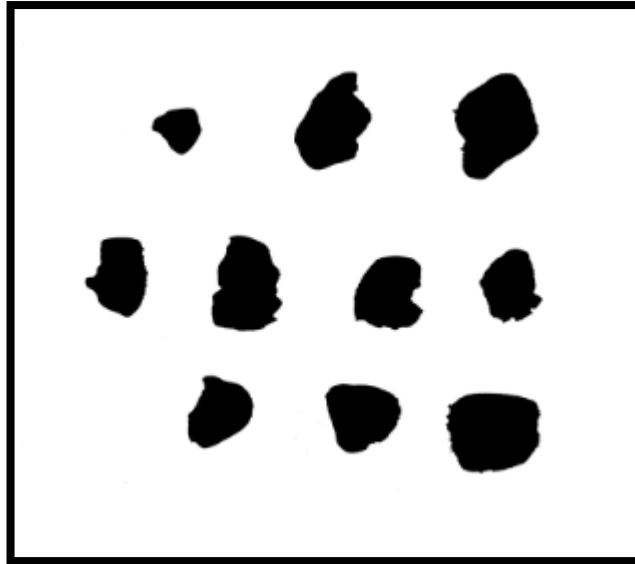


Figura 25: 10 ciclos de masticación humana.

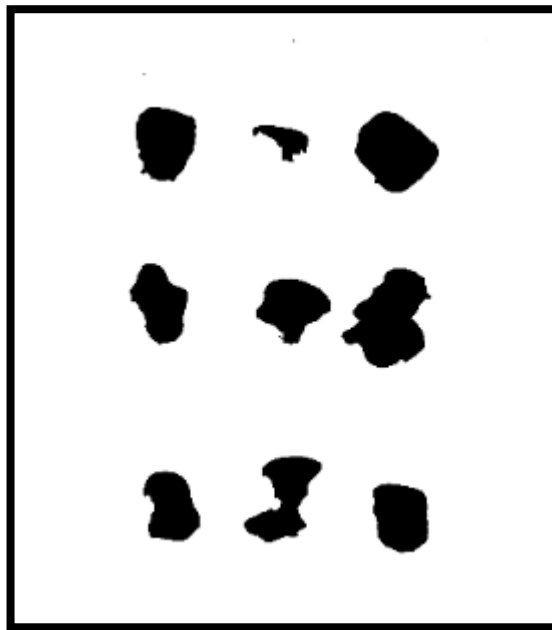


Figura 26: 10 ciclos de masticación simulada.

Anexo 4.1: 15 ciclos de masticación

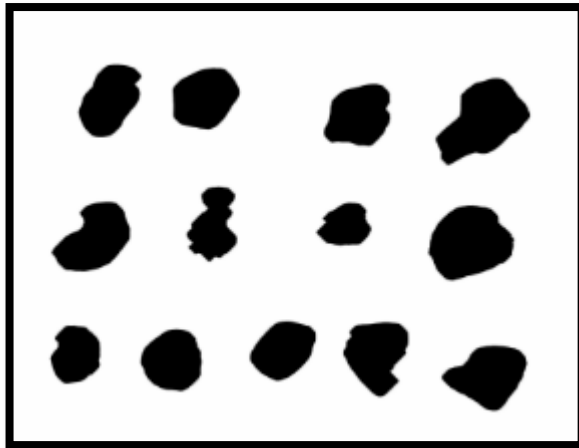


Figura 27: 15 ciclos masticación humana.

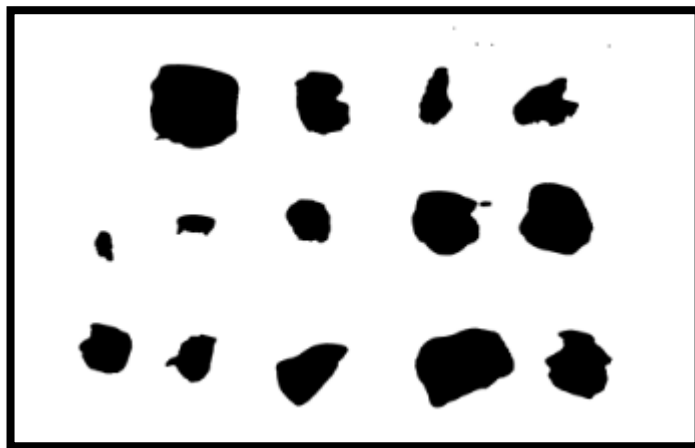


Figura 28: 15 ciclos de masticación simulada.

Anexo 5: Mediciones Análisis de Textura gel

Tabla 10: Mediciones textura en 12 cubos diferentes.

Medición	D ₅₀ [mm]
1	16,67 [N]
2	14,42 [N]
3	16,67 [N]
4	18,24 [N]
5	14,42 [N]
6	14,56 [N]
7	16,62 [N]
8	14,91 [N]
9	15,10 [N]
10	18,44 [N]
11	16,38 [N]
12	18,63 [N]
Promedio	16,26 [N]
Desviación estándar	1,58 [N]

Anexo 5.1 Gráficas de análisis de textura

A continuación, se presentan las gráficas de cada una de las mediciones, cabe destacar que se utiliza el valor del primer peak mostrado, dado a que ese peak representa la primera fractura del gel.

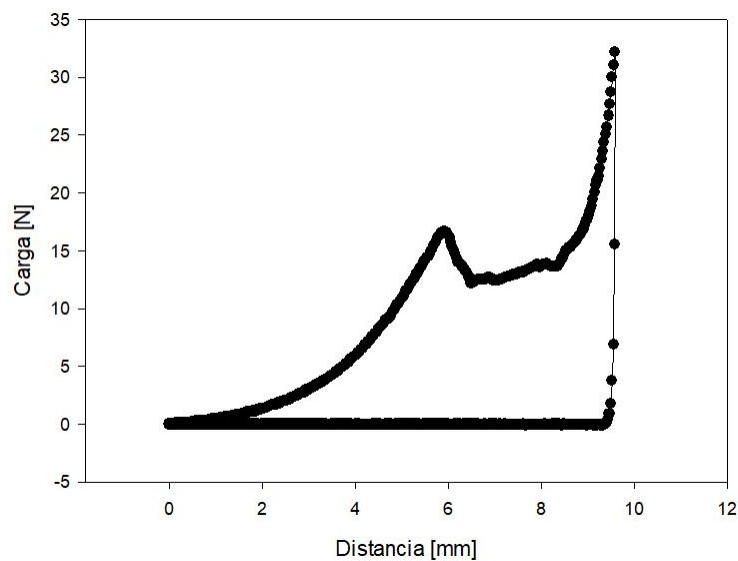


Figura 29: Medición N°1 de Análisis de Textura

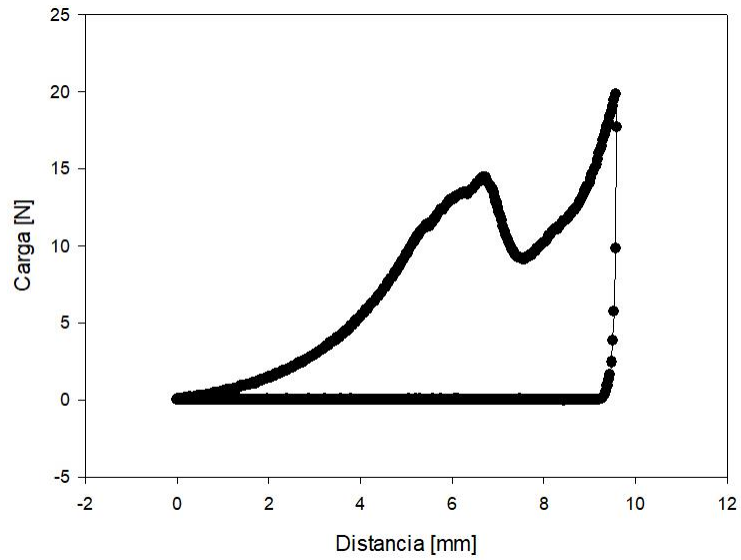


Figura 30: Medición N°2 de Análisis de Textura

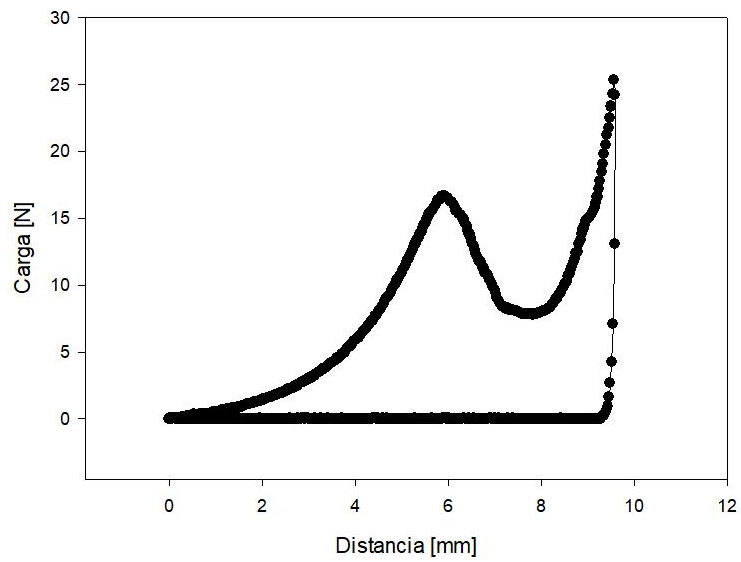


Figura 31: Medición N°3 de Análisis de Textura

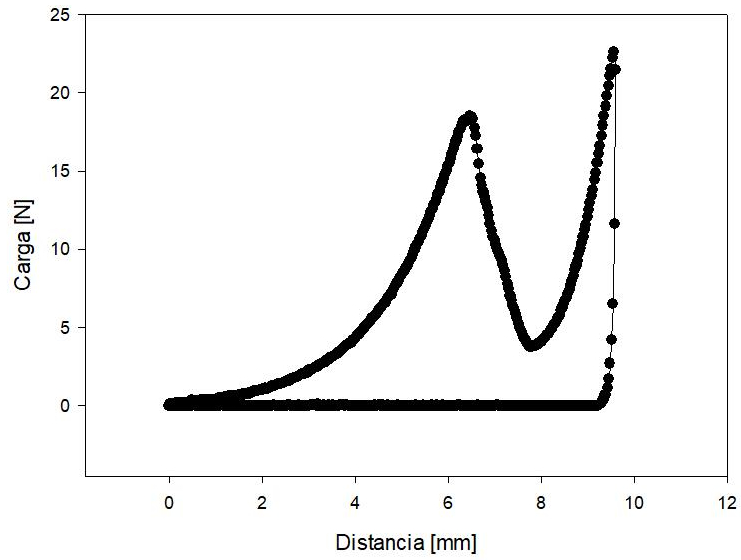


Figura 32: Medición N°4 de Análisis de Textura

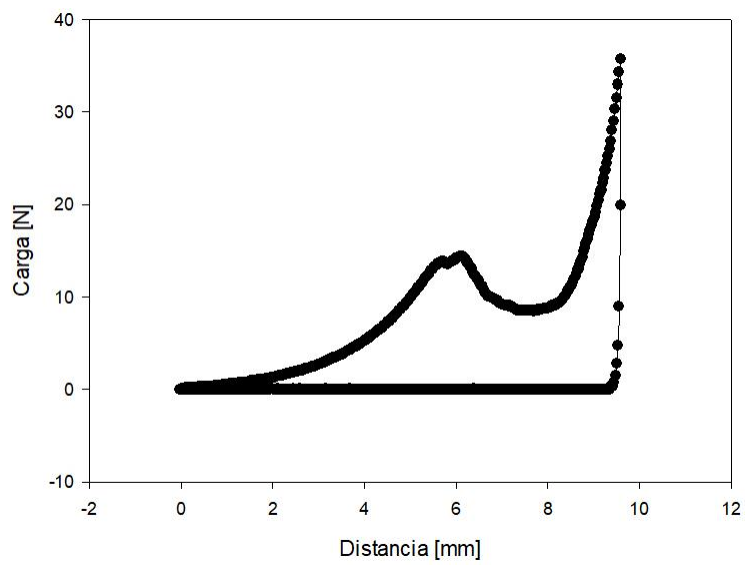


Figura 33: Medición N°5 de Análisis de Textura

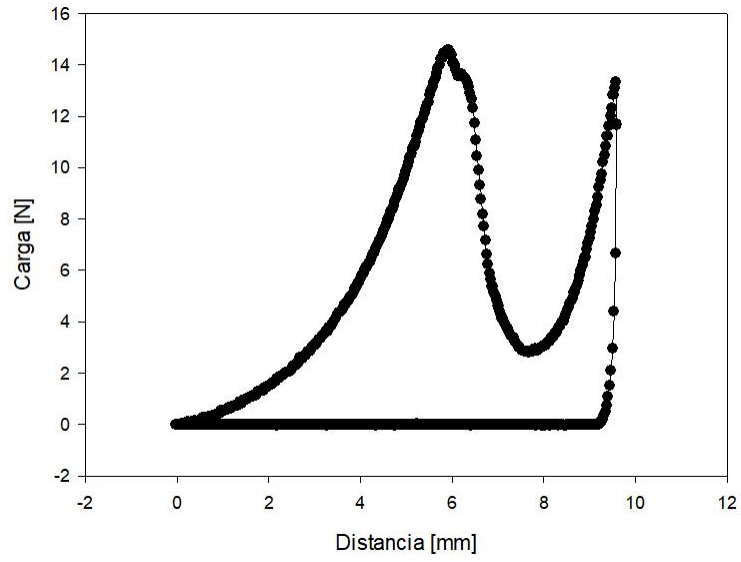


Figura 34: Medición N°6 de Análisis de Textura

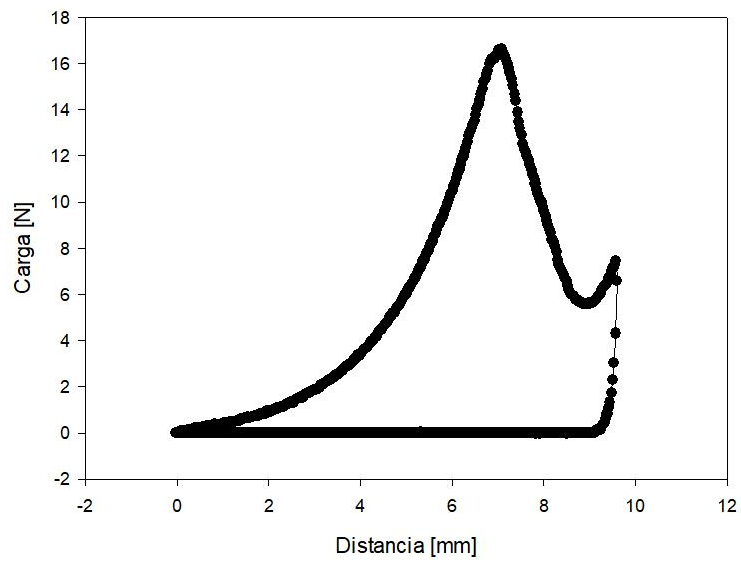


Figura 35: Medición N°7 de Análisis de Textura

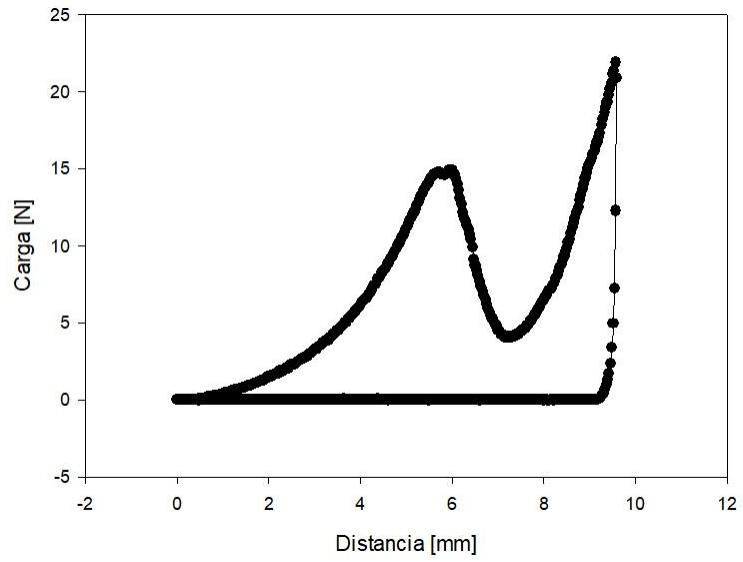


Figura 36: Medición N°8 de Análisis de Textura

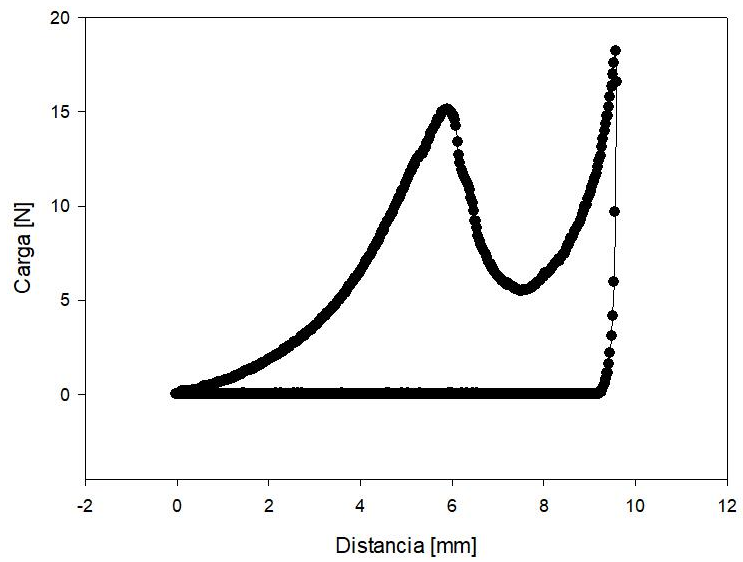


Figura 37: Medición N°9 de Análisis de Textura

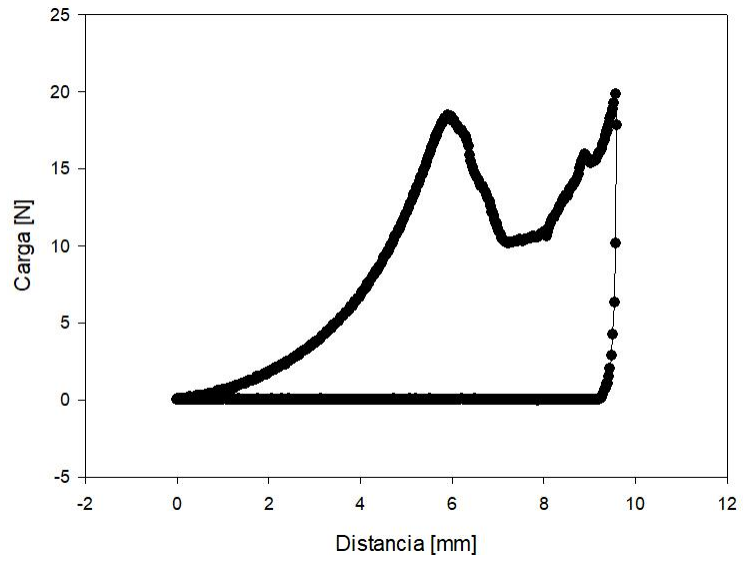


Figura 38: Medición N°10 de Análisis de Textura

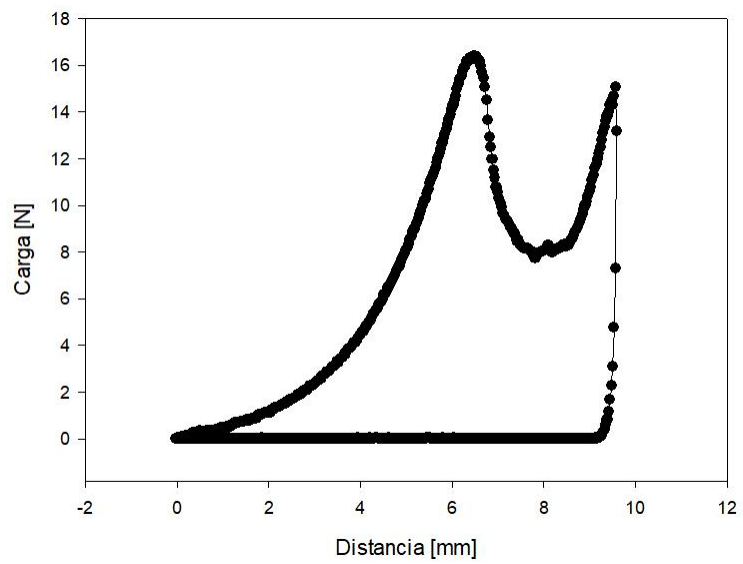


Figura 39: Medición N°11 de Análisis de Textura

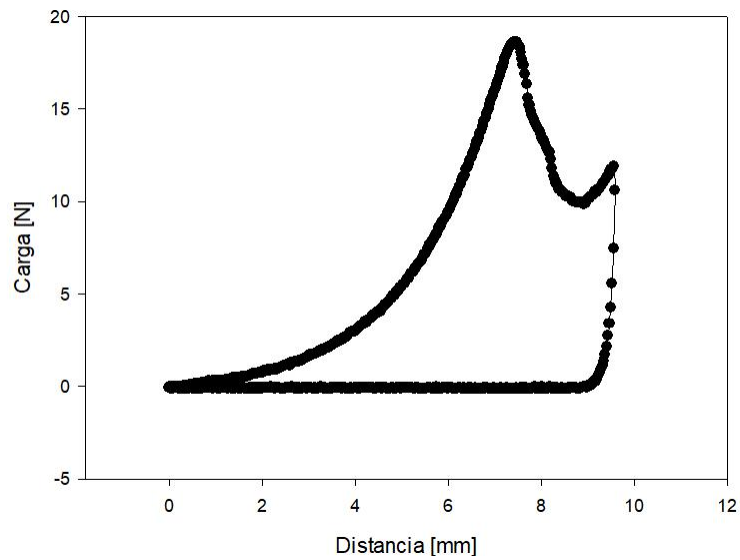


Figura 40: Medición N°12 de Análisis de Textura

Anexo 6: Mediciones de humedad microcápsulas

Tabla 11: Mediciones de humedad para 3 muestras diferentes de microcápsulas.

Tiempo	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Tara	45,6990 [g]	42,9693 [g]	46,1679 [g]
0 [min]	45,6990 [g]	43,9383 [g]	47,2542 [g]
10 [min]	46,6635 [g]	43,9045 [g]	47,2177 [g]
20 [min]	46,6249 [g]	43,9010 [g]	47,2159 [g]
35 [min]	46,6194 [g]	43,8951 [g]	47,2071 [g]
50 [min]	46,6179 [g]	43,8951 [g]	47,2071 [g]
Masa agua final	0,0456 [g]	0,0432 [g]	0,0471 [g]
Masa inicial	0,9645 [g]	0,9690 [g]	1,0863 [g]
Humedad	4,7278%	4,4582%	4,3358%

Anexo 7: Mediciones de tamaño microcápsulas

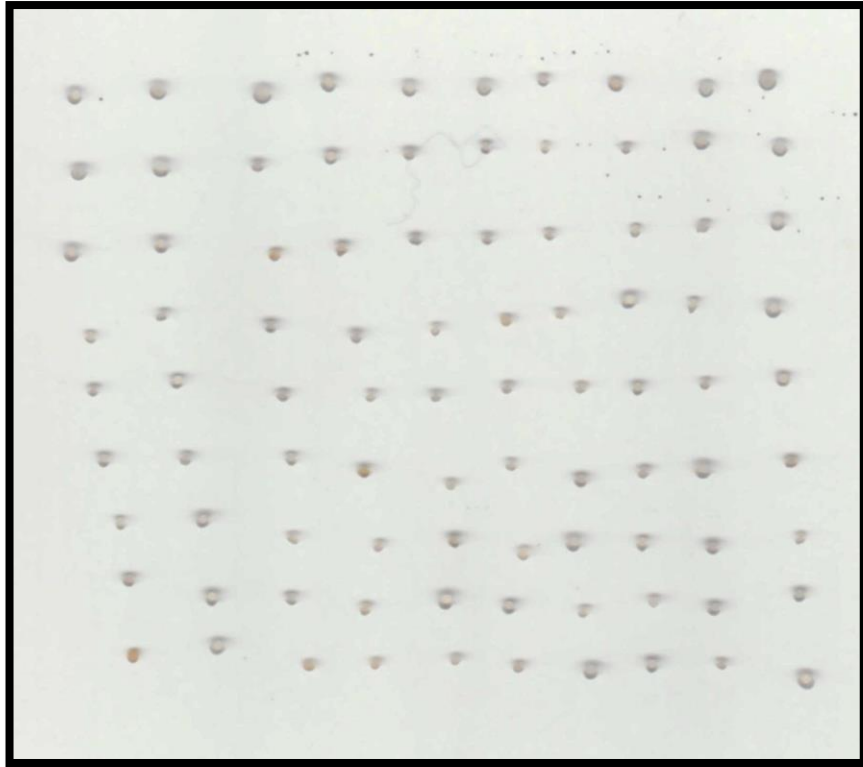


Figura 41: Imagen microcápsulas en scanner.

Anexo 8: Mediciones de tamaño partícula alimento masticado

Anexo 8.1 Imágenes partículas masticadas

5 ciclos de masticación

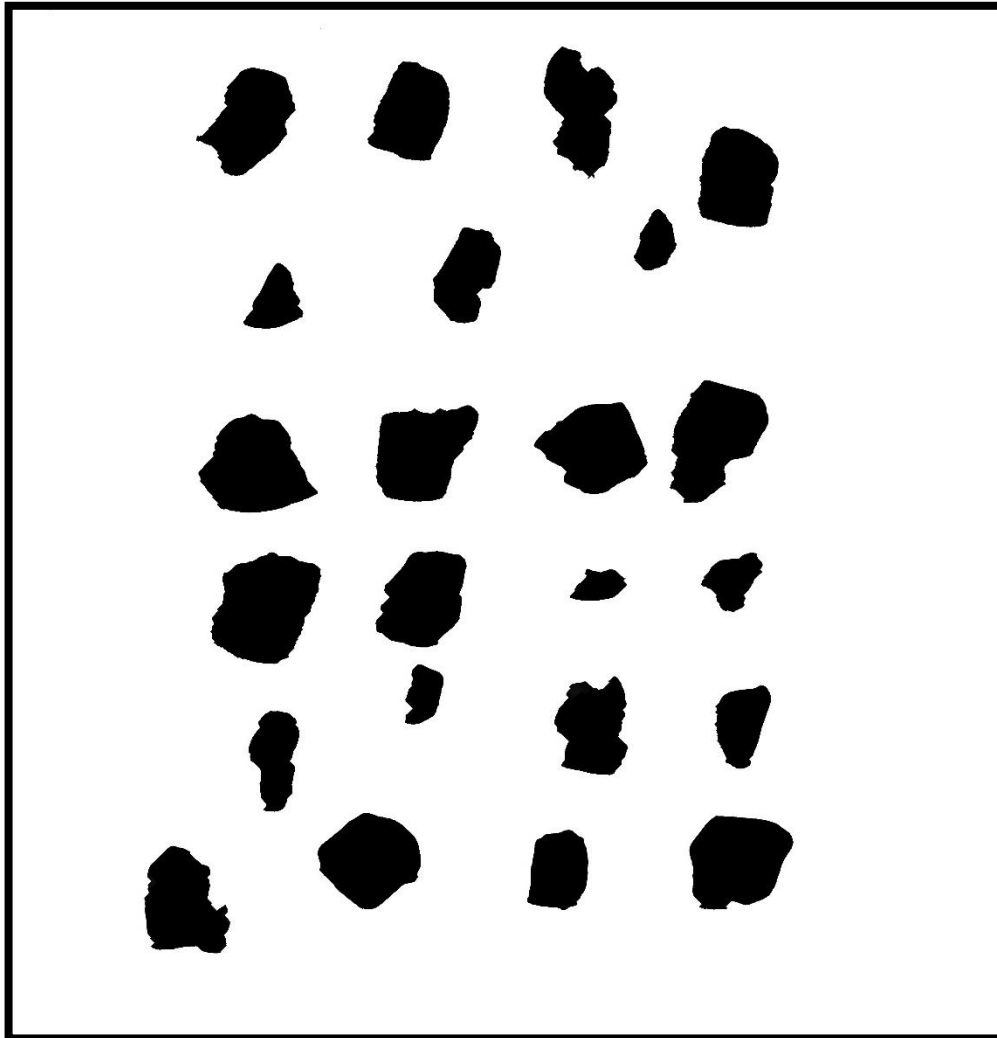


Figura 42: Imagen N°1 partículas con 5 ciclos de masticación.

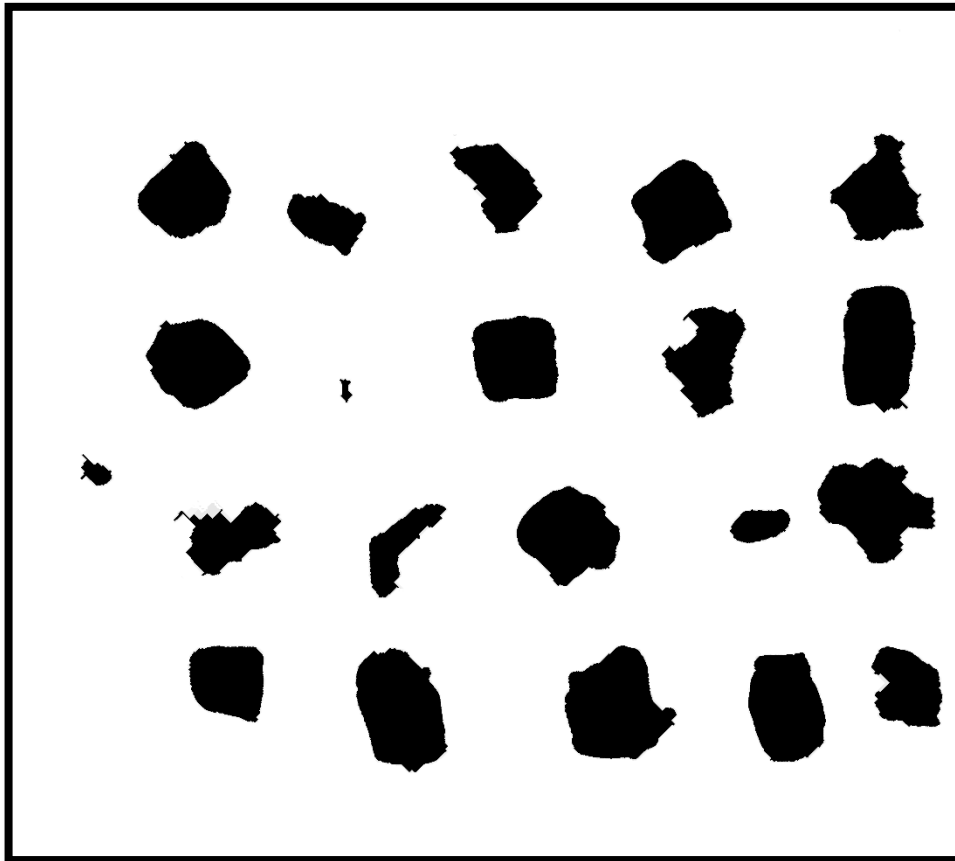


Figura 43: Imagen N°2 partículas con 5 ciclos de masticación.

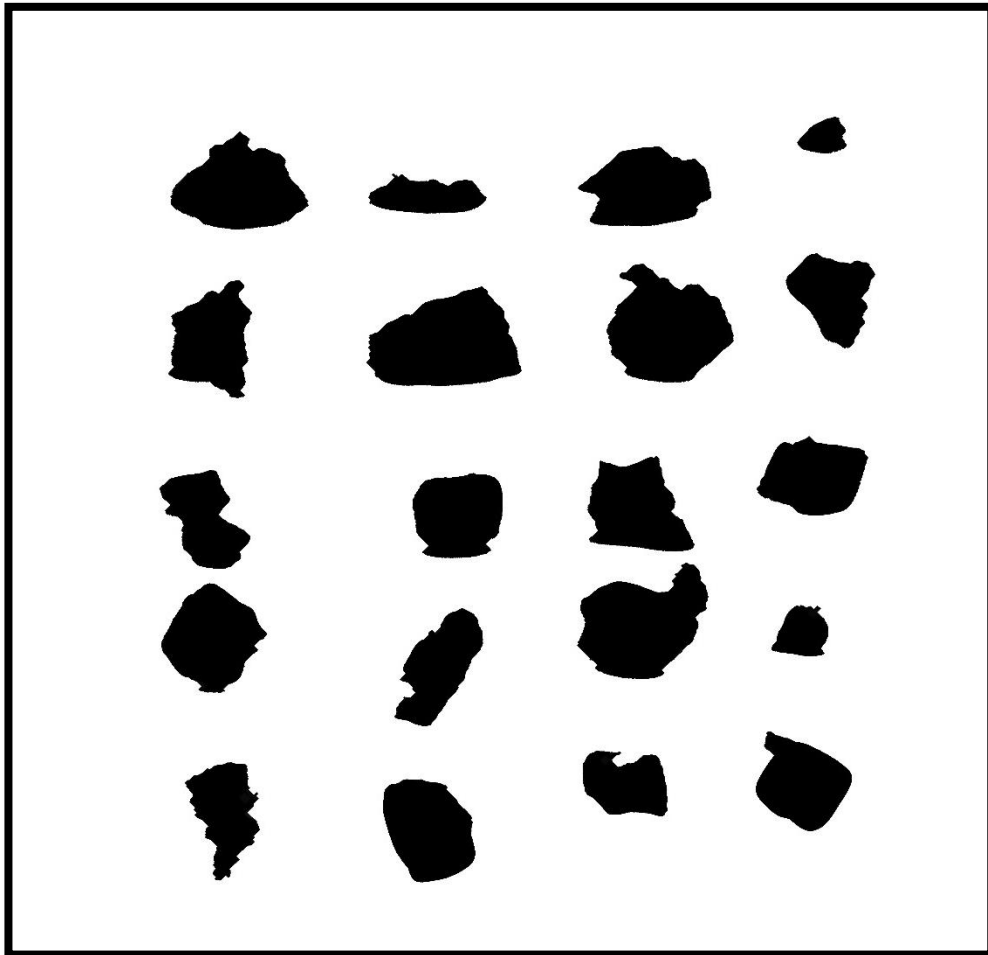


Figura 44: Imagen N°3 partículas con 5 ciclos de masticación.

10 ciclos de masticación

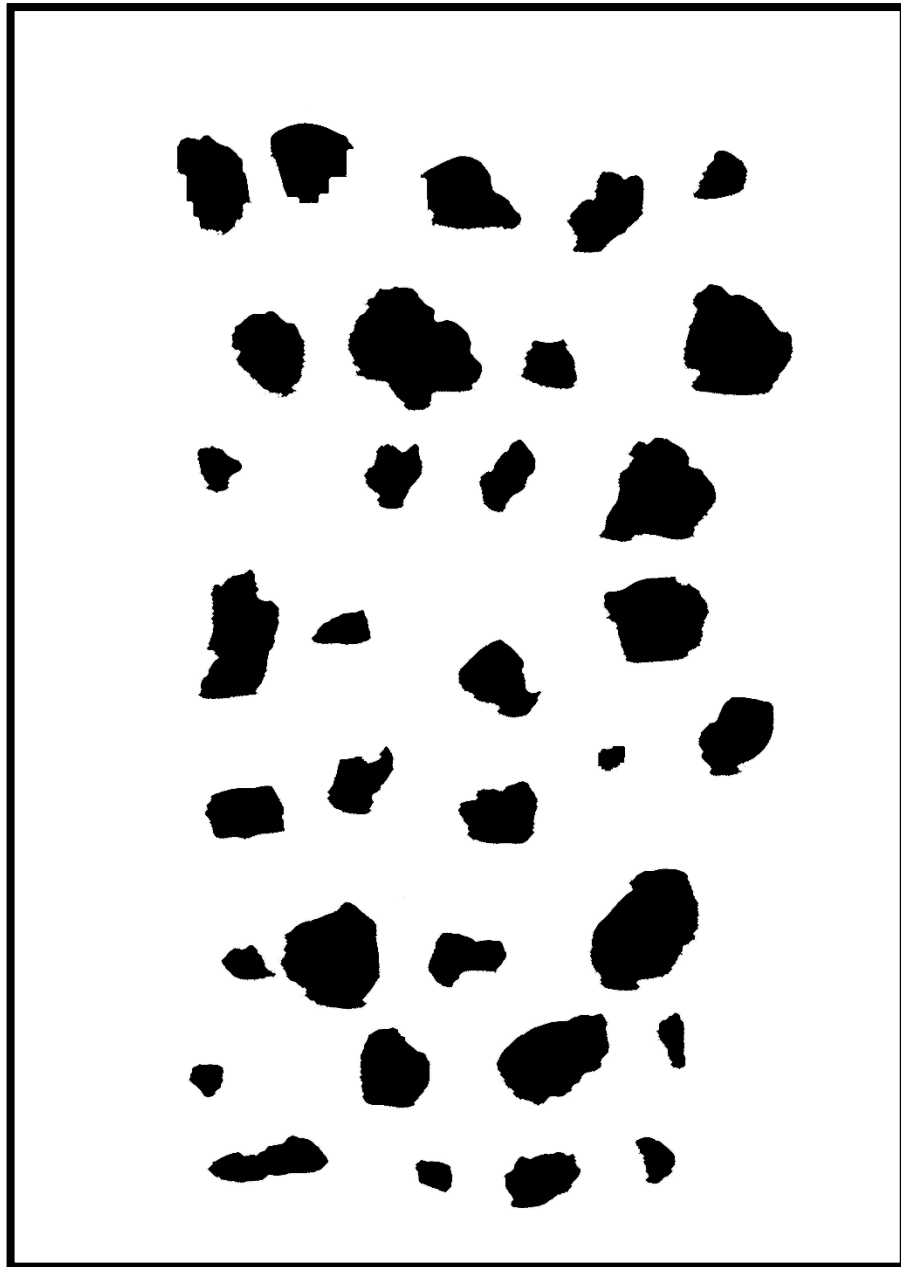


Figura 45: Imagen N°1 partículas con 10 ciclos de masticación.

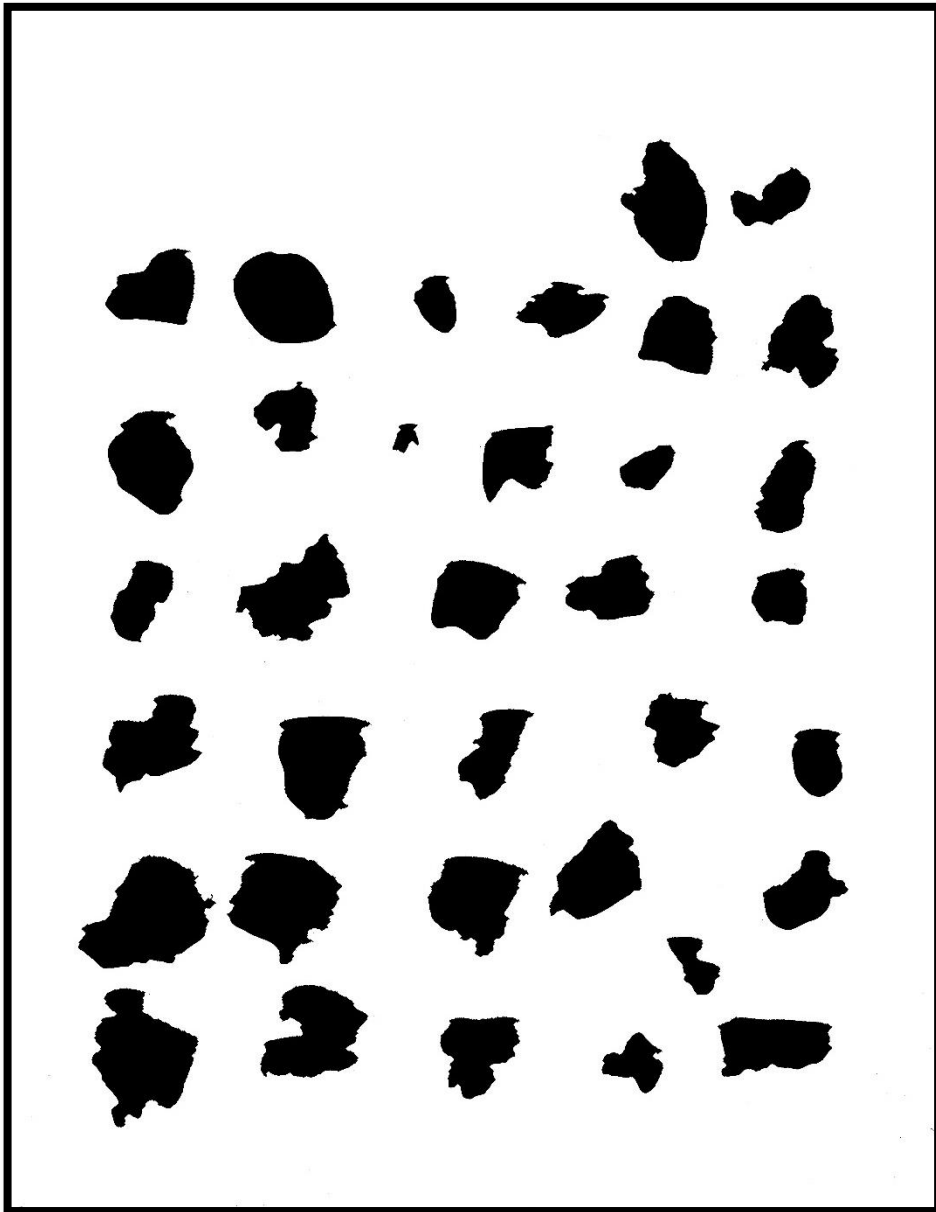


Figura 46: Imagen N°2 partículas con 10 ciclos de masticación.

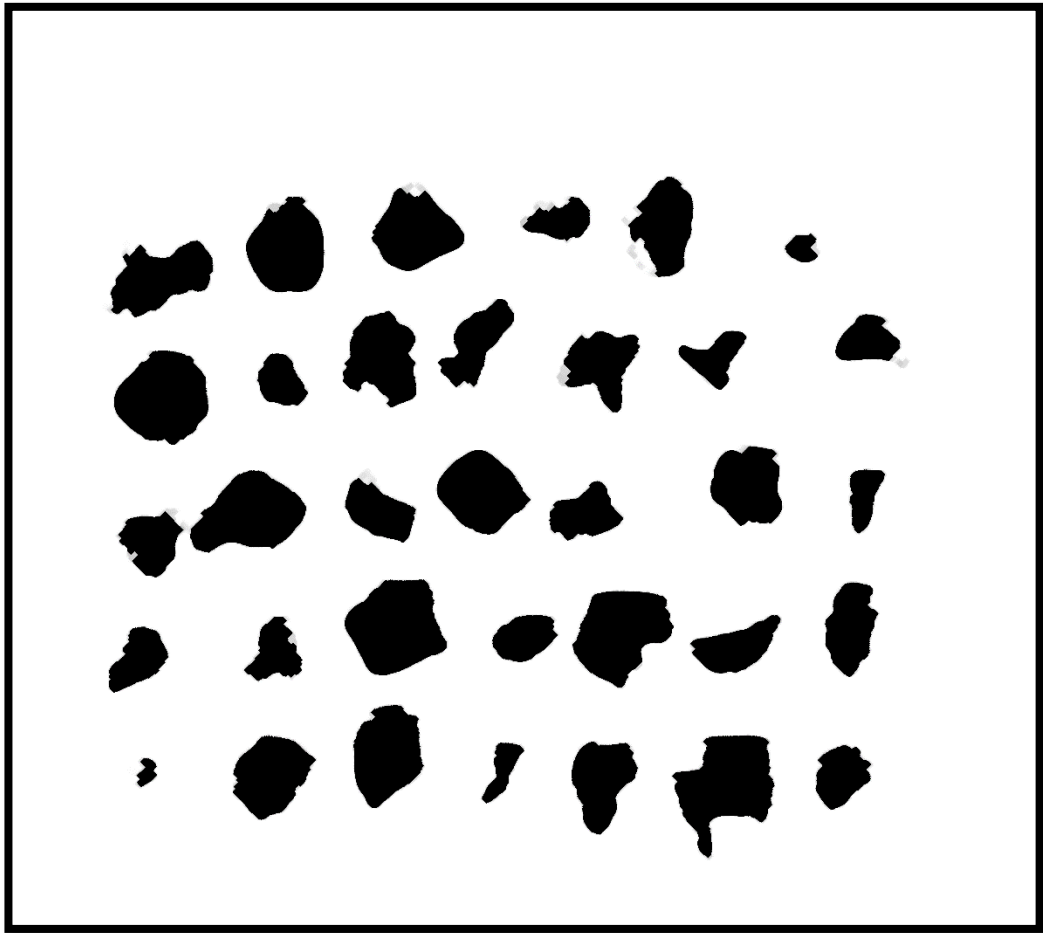


Figura 47: Imagen N°3 partículas con 10 ciclos de masticación.

15 ciclos de masticación

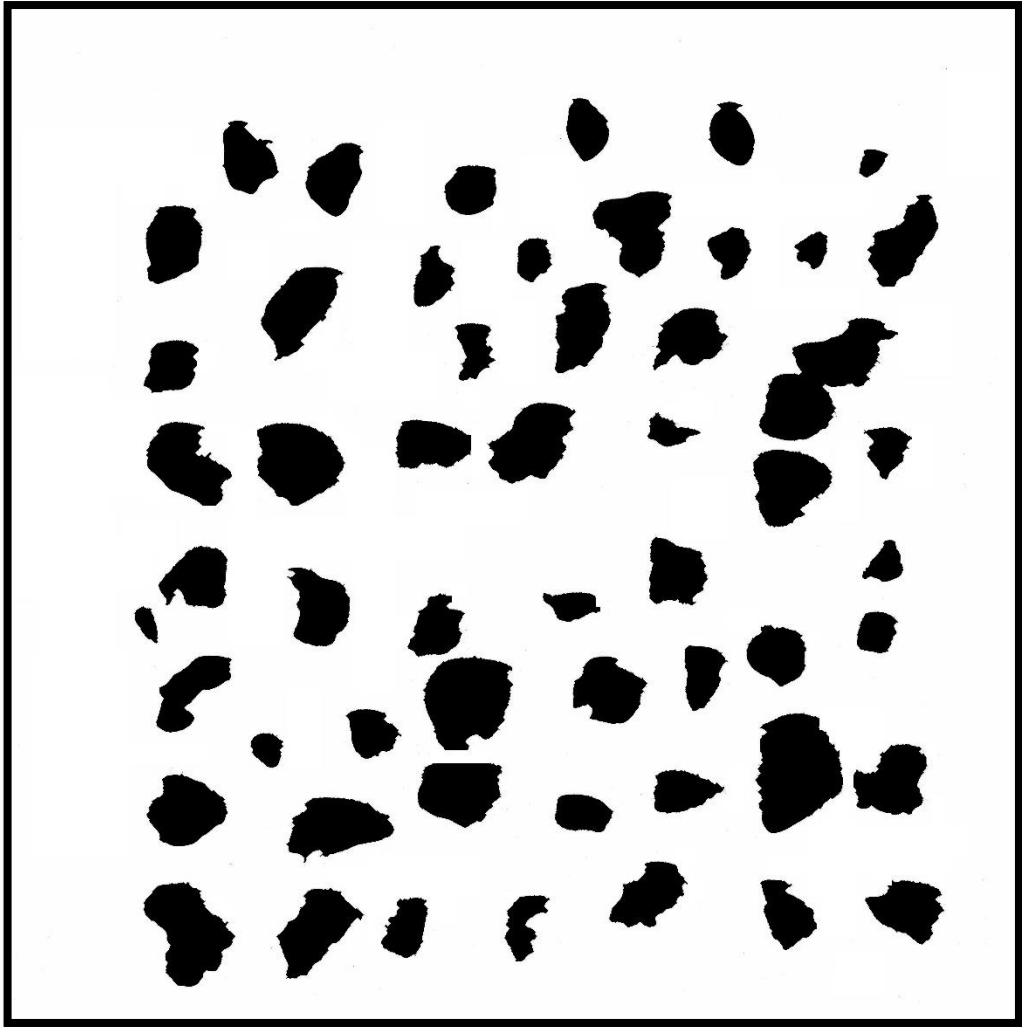


Figura 48: Imagen N°1 partículas con 15 ciclos de masticación.

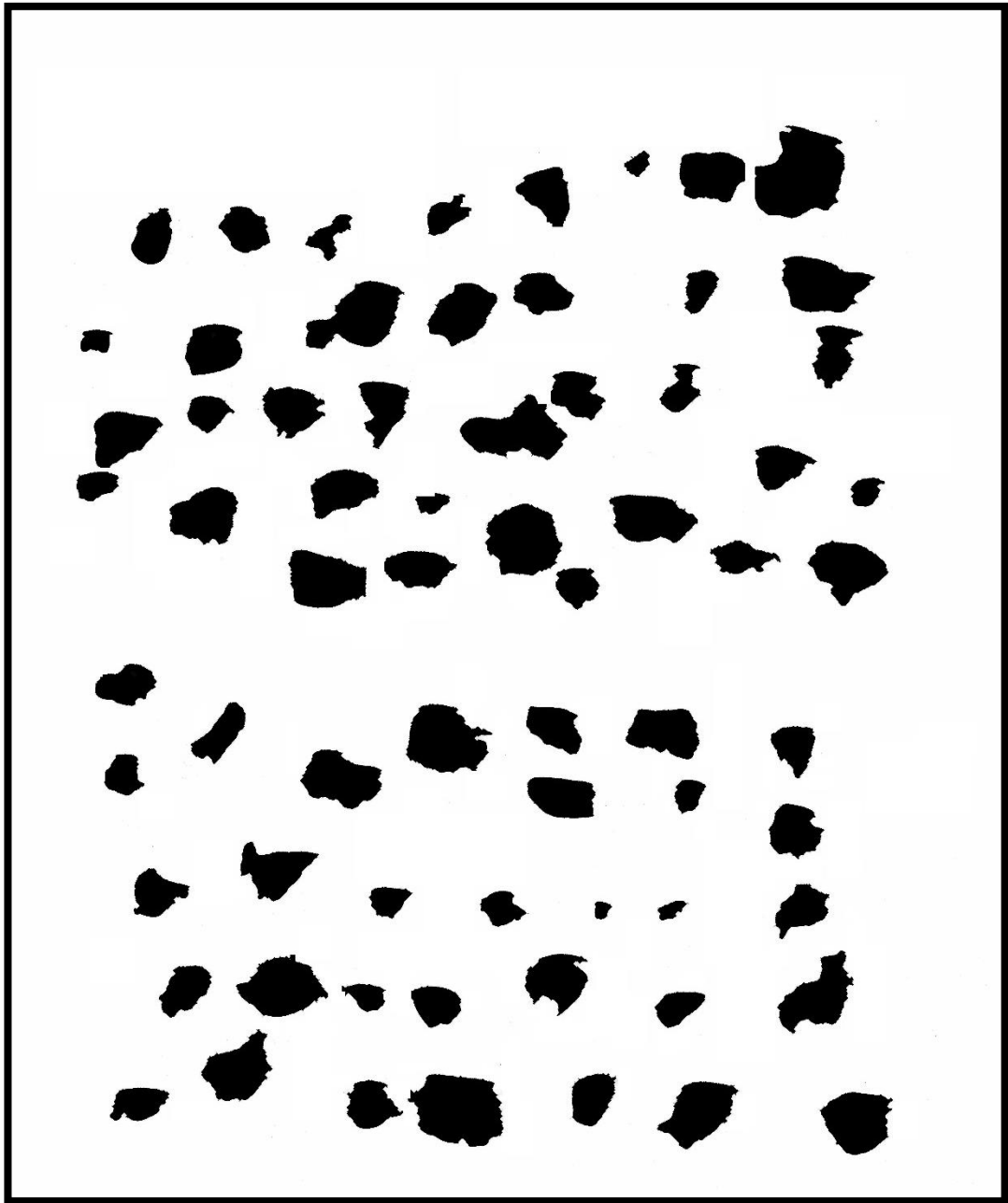


Figura 49: Imagen N°2 partículas con 15 ciclos de masticación.

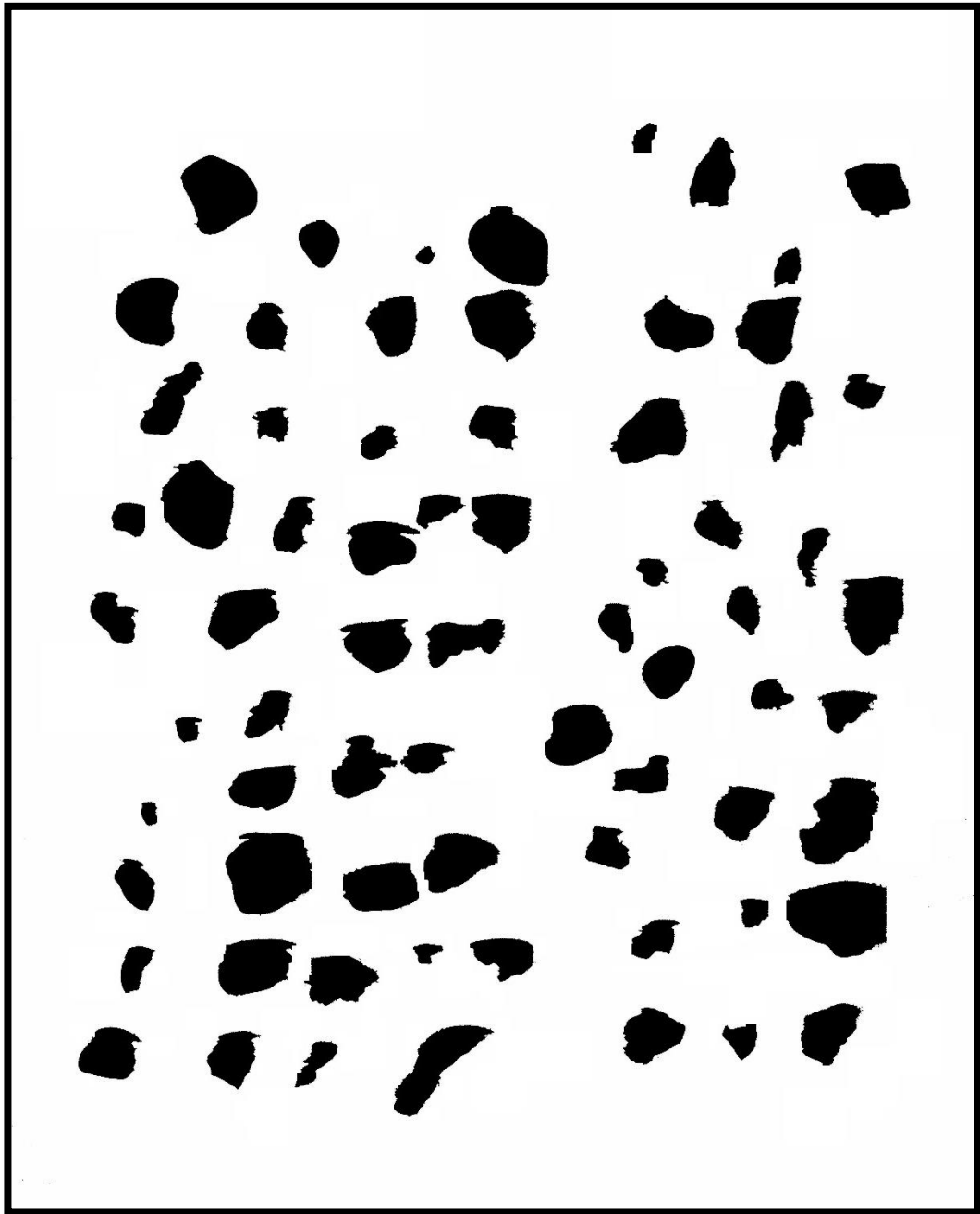


Figura 50: Imagen N°3 partículas con 15 ciclos de masticación.

Anexo 8.2 Gráficas distribución de tamaño de partículas masticadas

5 ciclos de masticación

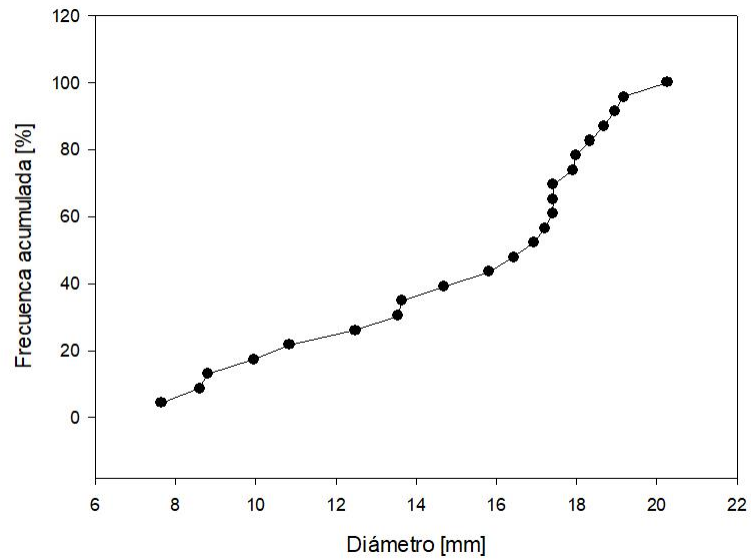


Figura 51: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 5 ciclos de masticación.

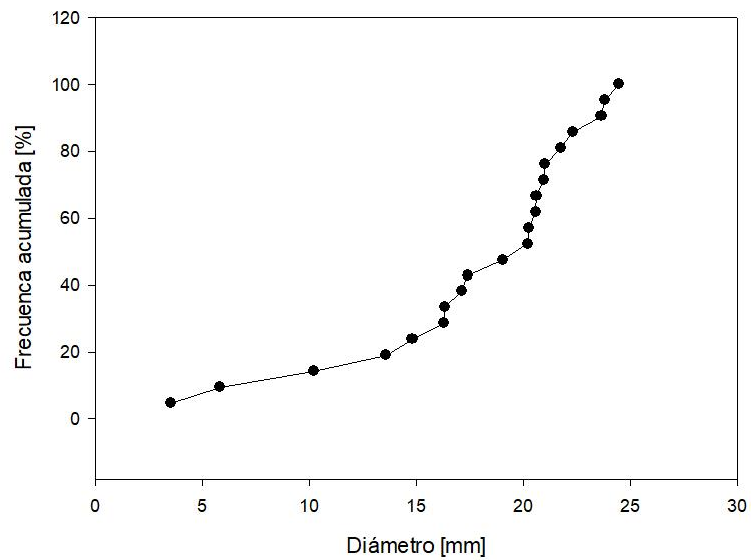


Figura 52: Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 5 ciclos de masticación.

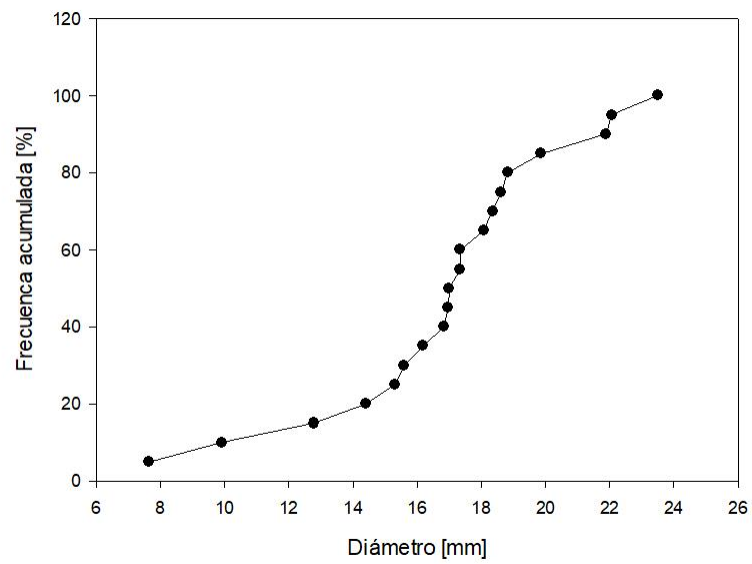


Figura 53: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 5 ciclos de masticación.

10 ciclos de masticación

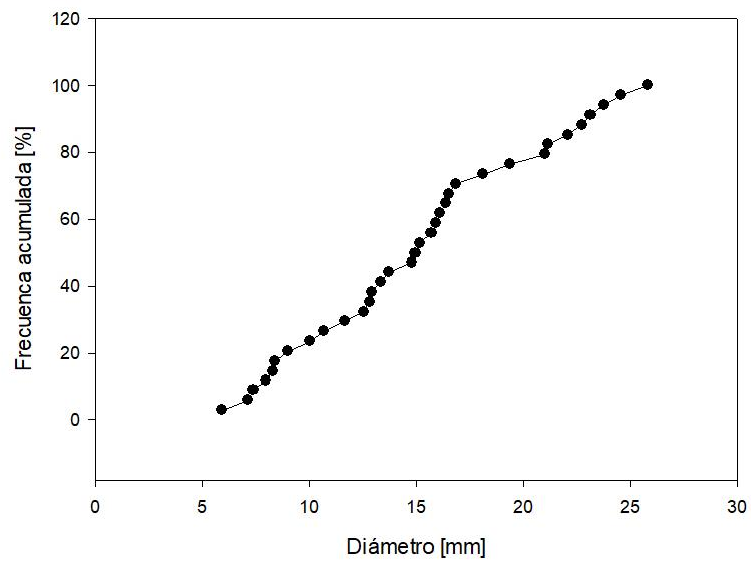


Figura 54: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 10 ciclos de masticación.

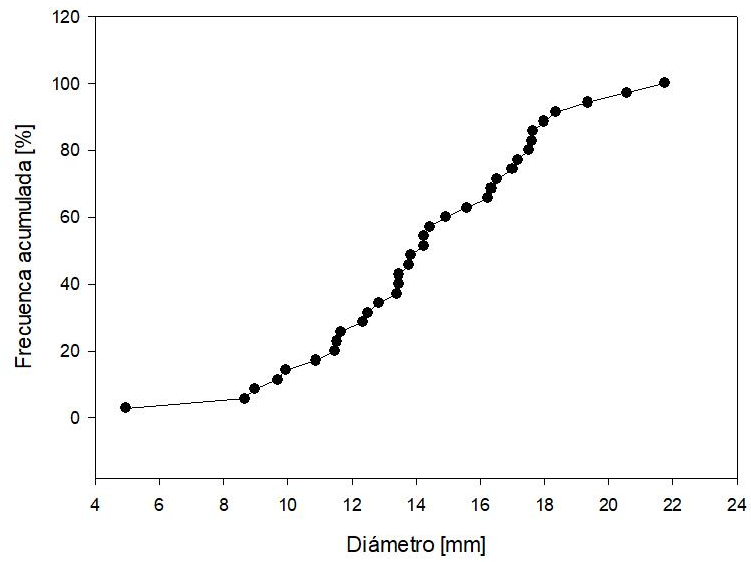


Figura 55: Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 10 ciclos de masticación.

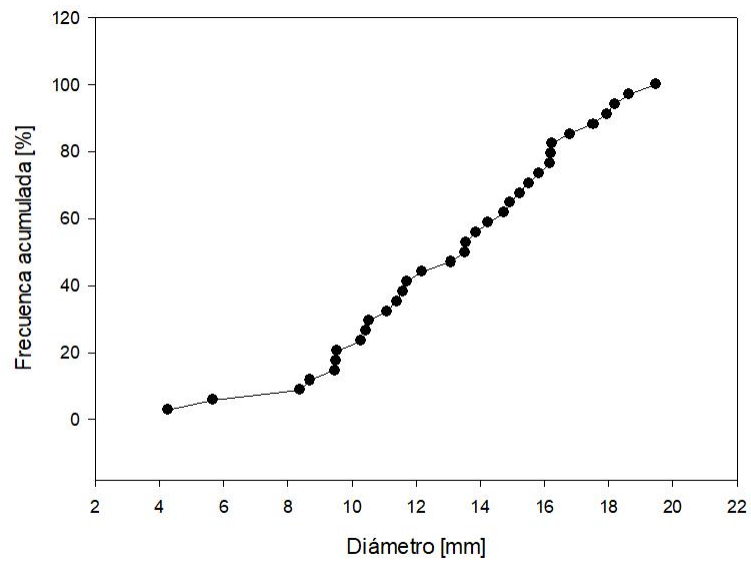


Figura 56: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 10 ciclos de masticación.

15 ciclos de masticación

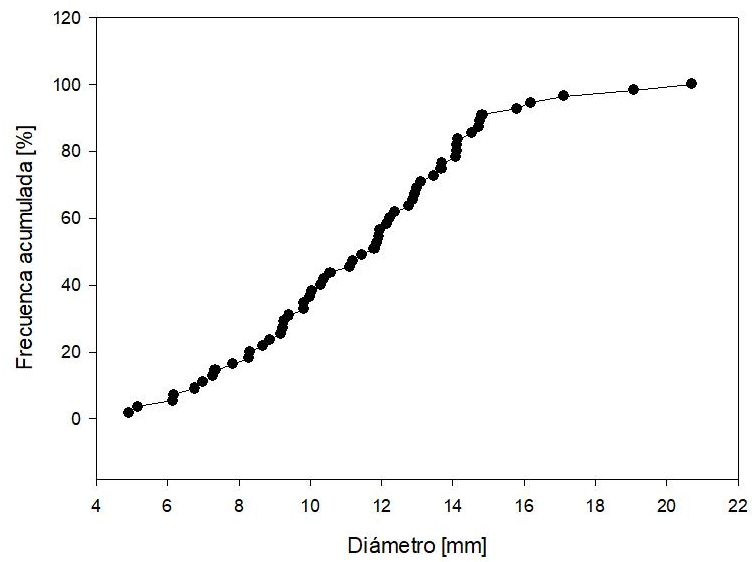


Figura 57: Distribución de tamaño partículas imagen N°1 con 15 ciclos de masticación.

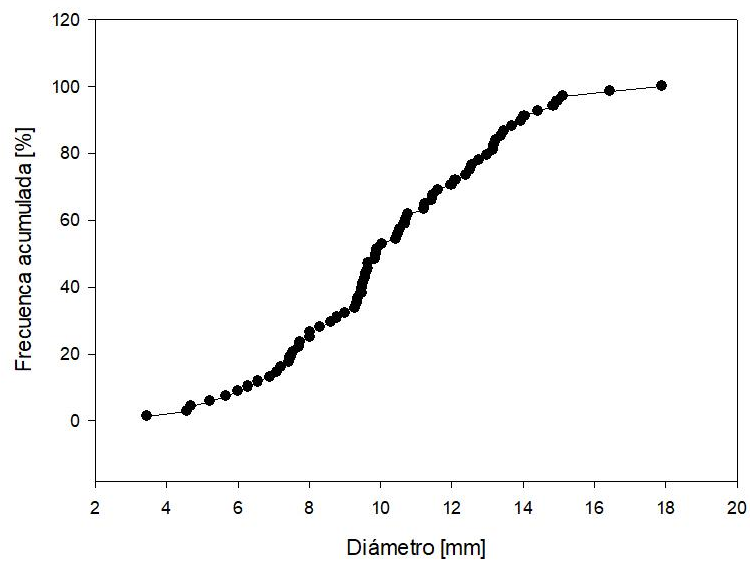


Figura 58: Distribución de tamaño partículas imagen N°2 con 15 ciclos de masticación.

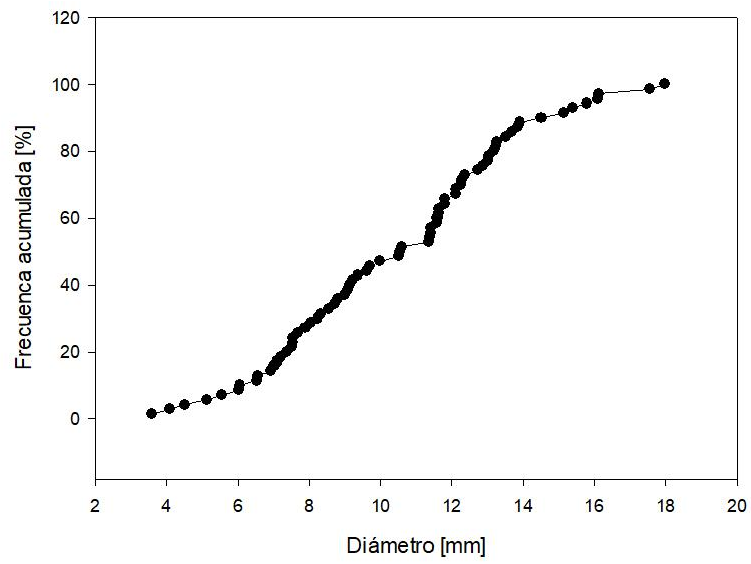


Figura 59: Distribución de tamaño partículas imagen N°3 con 15 ciclos de masticación.

