



DISEÑO DE UN JUGO MÍNIMAMENTE PROCESADO ADICIONADO CON MICRO Y NANOCÁPSULAS DE ÁCIDO FÓLICO Y SU USO COMO VEHÍCULO PARA LA INGESTA EN RATAS WISTAR

DESIGN OF A MINIMALLY PROCESSED JUICE ADDED WITH MICRO AND NANOCAPSULES OF FOLIC ACID AND ITS USE AS VEHICLE FOR INGESTION IN WISTAR RATS

V. Santacruz-Vázquez^{1*}, C. Santacruz-Vázquez¹ y J.O. Laguna-Cortés²

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química, Ciudad Universitaria, 72570, Puebla, Pue., México.

²Instituto Tecnológico de Puebla, 72220, Puebla, Pue., México.

Recibido 7 de Noviembre de 2012; Aceptado 22 de Marzo de 2013

Resumen

Se diseñó un jugo de piña mínimamente procesado (JPMP) adicionado con micro y nanocápsulas de ácido fólico (AF) y se usó como vehículo para la ingesta de AF en un modelo experimental de ratas Wistar. Se formaron grupos con 4 diferentes dietas de hidratación. Los animales fueron sometidos durante 30 días a las dietas establecidas y a extracciones de sangre, para determinar valores de eritrocitos, hematocritos y concentración de hemoglobina. El consumo de la bebida fortificada por las ratas madre permitió valores medios significativamente mayores de hemoglobina y hematocritos en el plasma al cabo de los 30 días de tratamiento, además de un aumento mayor de la talla y peso de las crías. El modelo de von Bertalanffy describió adecuadamente los datos de peso y longitud de las ratas.

Palabras clave: nanocápsulas, ácido fólico, jugo de piña mínimamente procesado, ratas.

Abstract

A minimally processed pineapple juice added with micro- and nanocapsules of folic acid (FA) were designed and it was used as vehicle for ingestion of FA in an experimental model using Wistar rats. The rats were allocated into four groups and fed four different hydration diets for 30 days. Blood samples were collected after feeding to determine the erythrocyte, hematocrit count and hemoglobin concentration. Consumption of micro- and nanocapsules of folic acid-fortified juice for 30 days resulted in significant increases in plasma hemoglobin concentrations and hematocrit, as well as increased size and weight gain of the offspring. Model of von Bertalanffy allowed to describe models body weight and length rats data.

Keywords: fortified food, nanoencapsulation, folic acid, minimally processed pineapple juice, rats.

1 Introducción

La encapsulación es una técnica ampliamente empleada en la industria farmacéutica y de alimentos que consiste en recubrir sustancias activas sólidas, líquidas o gaseosas mediante una película (Gharsallaoui, 2007). Los materiales empleados

para el recubrimiento y formación de la película son materiales poliméricos entre ellos polisacáridos; lípidos, lecitinas y proteínas (Champagne y col., 2007; Yadav y col., 2007; Fuchs y col. 2006; Barbosa y col., 2005; Phillips y Williams, 2003). Específicamente en el área de alimentos y biomateriales las aplicaciones

*Autora para la correspondencia. E-mail: versanva@gmail.com

de esta técnica han ido en aumento debido a la necesidad de incrementar la protección de los materiales encapsulados de factores ambientales como calor y humedad, permitiendo mantener su estabilidad química y viabilidad para su uso. La microencapsulación permite que los materiales alimenticios resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando la calidad en sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia (Carrillo-Navas y col., 2011). Wang y col. (2010) establecieron que según su diámetro los cápsulas son consideradas como microcápsulas 1-1000 μm mientras que las nanocápsulas presentan valores del diámetro en un intervalo entre 1-1000nm.

En otro entorno, las variaciones en los patrones de la alimentación humana generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a los alimentos mínimamente procesados y alimentos funcionales. Los alimentos mínimamente procesados se han definido como aquellos alimentos sólidos (frutas, hortalizas, tubérculos, enteros o fraccionados), o líquidos (jugos), que han sido lavados, desinfectados, pelados, cortados, prensados, filtrados y envasados listos para ser consumidos, y que mantienen todas las características del producto fresco, presentando una vida útil corta de 7 a 10 días, también conocidos como alimentos gama IV. Existe una gran diversidad de estos productos en el mercado internacional, ensaladas de verduras, frutas troceadas, jugo de frutas y verduras, cuyas ventajas son su frescura, ausencia de aditivos y una vida útil más larga respecto a los productos frescos (Lee y col., 2003).

Con respecto a la otra tendencia anteriormente citada, los alimentos funcionales se refieren a aquellos productos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una acción específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional (Kam y col., 2012; Gliszczyńska-Świgło, 2007; Gregory III y col., 2005). Son similares en apariencia a los alimentos comunes, son consumidos en una dieta usual y se ha demostrado que presentan beneficios fisiológicos a la salud humana. La concentración de los nutrientes se puede incrementar por encima de los niveles contenidos en forma natural en el alimento, resultando un producto enriquecido (Capita y Calleja, 2006).

El ácido fólico (AF) es una vitamina del complejo B que juega un papel fundamental en el proceso de la multiplicación celular, siendo primordial su consumo durante el embarazo (Tzu-Yuan y col., 2007; Green y col., 2003) ya que contribuye a la

prevención de defectos de nacimiento en el cerebro y la médula espinal denominados defectos del tubo neural (Herrmann, y Obeid, 2011; Paschoal-Prado y col., 2010, Fassiatou y col., 2007). A pesar de que el AF puede encontrarse en frutas, vegetales y granos, es difícil obtener la cantidad necesaria de esta vitamina sólo de la dieta. Sin embargo la dieta común de muchas mujeres no aporta en ningún caso más de 200 microgramos (Liu y col., 2012; Linabery y col., 2012; Jayapriya y col., 2010). El ácido fólico se encuentra formado por una molécula de ácido pterico al que se le une un número variable de residuos de ácido glutámico; a su vez, el primero consta de un grupo de 2-amino-4-hidroxi-6-metilpterina enlazado a un ácido p-aminobenzoico. De todos los folatos, el ácido fólico o ácido pterilglutámico es el que tiene una mayor actividad biológica (Jayapriya y col., 2010). Vora y col. (2002) determinaron que el ácido fólico presenta deterioro en su estructura, resultado del estrés térmico durante el procesamiento de los alimentos. La reacción de deterioro consiste en la separación de sus grupos iniciando por la fracción del ácido glutámico. Akhtar y col. (2003), establecieron que el ácido fólico es una vitamina fotosensible, cuya velocidad de fotólisis es descrita por una reacción de primer orden. Younis y col. (2009) establecieron que el pH del alimento es fundamental para su disolución, siendo considerablemente mayor en soluciones alcalinas que en soluciones ácidas. El objetivo de este trabajo consistió en diseñar un jugo de piña mínimamente procesado adicionado con micro y nanocápsulas de AF y emplearlo como vehículo para introducir las micro y nanocápsulas de AF en ratas Wistar durante el periodo de gestación.

2 Materiales y métodos

2.1 Obtención del jugo de piña mínimamente procesado (JPMP)

Ejemplares de piña (*Ananas comosus*) se adquirieron en un mercado en la ciudad de Puebla, y fueron almacenados hasta que los frutos alcanzaron un contenido de sólidos solubles totales (SST) de 16 a 17 %. Los ejemplares de piña fueron lavados con agua clorada (150 $\mu\text{g L}^{-1}$), pelados y cortados en cubos de 2.5 cm por arista aproximadamente. Los cubos se sanitizaron por inmersión en agua clorada (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante 2 min) y posteriormente se les extrajo el jugo mediante un extractor previamente esterilizado. El jugo obtenido fue envasado en bolsas de polietileno de

250 ml con tapa y almacenado durante 12 días a 5 °C. Cada 2 días se analizaron las bolsas, 20 de las cuales se utilizaron para la evaluación sensorial y 9 para evaluar los cambios en color, sólidos solubles totales (SST) y pH. El experimento se realizó por triplicado. El valor de la actividad acuosa (0.88 ± 0.01) del jugo de piña desarrollado fue ajustado mediante la adición de sacarosa, mientras que el pH (3 ± 0.1) fue ajustado con ácido cítrico comercial (Fabpsa, México).

El porcentaje de sólidos solubles totales (SST) se determinó por refractometría ($^{\circ}\text{Bx}$) con un refractómetro digital marca ATAGO modelo (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japón). El pH se midió por la técnica de inmersión del electrodo, con un potenciómetro digital marca Corning (Corning Medical and Instrument, Inglaterra), calibrado con amortiguadores de pH 7 y 4. La actividad de agua se determinó mediante un medidor de actividad de agua AquaLab (Decagon Devices, Illinois, E.U.A.).

2.2 Determinación del porcentaje de acidez e índice de madurez de la piña previo a su procesamiento

El valor del porcentaje de acidez del jugo de piña fue determinado por titulación (A.O.A.C., 1995) mediante una solución de NaOH 0.1 N, utilizando fenoftaleína como indicador; el porcentaje de acidez (Ac) fue expresado en g de ácido/100 g de producto, teniendo en cuenta la dilución efectuada:

$$\%Ac = \frac{250}{m} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_o} \times f \quad (1)$$

Donde: % Ac= Porcentaje de acidez (g de ácido/100g de jugo) m = masa del jugo (g) V_o = Volumen de la muestra de jugo para ensayo (ml) V_1 = Volumen de la solución de hidróxido de sodio utilizada para la determinación (ml) c= Concentración de la solución de hidróxido de sodio (mol/l) f= Factor correspondiente al ácido mayoritario (ácido cítrico f=0.064)

El índice de madurez (IM) fue expresado como la relación entre el porcentaje de sólidos solubles totales (SST) y el porcentaje de acidez % Ac (A.O.A.C., 1995).

2.3 Análisis fisicoquímico del JPMP

Al inicio del experimento y en cada muestreo se midió el cambio en color del JPMP durante el almacenamiento. La evaluación se realizó con un colorímetro Minolta Croma Meter CR-300

(Minolta Corp., Ramsey, NJ, E.U.A.) empleando el sistema CIELab. Se determinaron los valores de L^* (luminosidad), a^* (componente rojo del color) y b^* (componente amarillo del color) según el procedimiento reportado por Moura y col. (2009).

La determinación de humedad se realizó en una termobalanza marca Ohaus MB45 (Ohaus Corp., NJ, E.U.A.) Las mediciones de SST, pH y humedad se realizaron por triplicado según los procedimientos de la AOAC (A.O.A.C., 1995).

2.4 Análisis proximal del JPMP

Se realizó el análisis proximal del JPMP suministrado a los animales mediante los métodos reportados en el A.O.A.C. (1995); la humedad se determinó mediante el método A.O.A.C. 32.1.03 (1995); cenizas se determinaron mediante el método de calcinación en mufla método gravimétrico; proteínas mediante el método A.O.A.C. 32.1.03 (1995); grasa mediante el método A.O.A.C. 920.160 (1995); fibra cruda mediante el método A.O.A.C. 45.1.3 (1995) y finalmente los carbohidratos se determinaron por diferencia de peso de los constituyentes determinados anteriormente.

2.5 Análisis microbiológico del JPMP

El análisis microbiológico del JPMP se realizó periódicamente en el transcurso de 12 días. La determinación de mesófilos aerobios se realizó por el método de recuento estándar por vertido en placa, mientras que la determinación de hongos y levaduras se realizó por la técnica vertido en placa (Mosqueda-Melgar y col., 2012).

2.6 Evaluación sensorial del JPMP

El jurado de evaluación sensorial estuvo constituido por una muestra de 100 estudiantes cuya edad osciló entre 15 - 30 años. Una vez conformado el jurado se evaluaron los parámetros sensoriales color, olor, sabor y aceptación general. Cada juez recibió las muestras en su envase original en orden aleatorio, debidamente codificadas con números aleatorios de tres dígitos. Los datos obtenidos de la evaluación sensorial se analizaron mediante estadística descriptiva y análisis de varianza con un diseño completamente aleatorizado para determinar diferencias significativas en los atributos sensoriales respecto al tiempo de almacenamiento, seguido de una

prueba de comparación de medias por el método de Tukey ($p \leq 0.05$) (Mosqueda-Melgar y col., 2012).

2.7 Encapsulación del AF por el método de secado por aspersión para su incorporación en el JPMP

Para los ensayos de encapsulación se usó ácido fólico (Merck, E.U.A.) y como material encapsulante la goma arábiga (GA) grado alimenticio (Fabpsa, México). En todos los ensayos se usó agua purificada. Para la obtención de las microcápsulas y nanocápsulas se preparó una suspensión cuya composición p/p fue AF (5%), de agua (77%) y goma arábiga (18%). Proporciones similares de materiales encapsulantes de GA fueron reportados por Pérez-Alonso y col. (2009). Las suspensiones se prepararon dispersando la goma arábiga en agua destilada con un agitador de hélice a $600 \text{ rpm} \pm 50$ y $17 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 30 minutos. Luego se adicionó el AF y se continuó agitando durante 30 min adicionales. Las cápsulas de AF fueron obtenidas secando la suspensión en un secador por aspersión de laboratorio Buchi modelo B-191 (Buchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza) equipado con una boquilla fija neumática con diámetro interno de 0.7 mm. La temperatura de entrada y salida del aire del secador fue mantenida a 150 ± 5 y $60 \pm 10^\circ\text{C}$, respectivamente y un tiempo de secado de 15 minutos (Gharsallaoui, 2007; Madziva y col., 2006). La velocidad de alimentación al sistema aspersor fue de 1.5 Lh^{-1} . La humedad de las muestras, se determinó por el método de estufa a vacío (A.O.A.C. 20.013, 1995).

2.8 Evaluación de las características morfológicas de las micro y nanocápsulas de AF

La estructura de las micro y nanocápsulas se evaluó usando microscopía electrónica de barrido. El microscopio que se empleó para la caracterización es un MEB de bajo vacío, modelo JSM-5300 (JEOL Ltd., Illinois, E.U.A.) con una diferencia de potencial de 20KV y una amplificación de 30000X. El análisis se efectuó a 12-15KV de voltaje de aceleración (Pulido y Beristain, 2010; Madene y col., 2006).

La distribución del tamaño de las cápsulas fue determinada usando un analizador de tamaño de partícula (MasterSizer 2000, Malvern, Worcestershire, Inglaterra) y agua como agente dispersante para la preparación de la muestra. La temperatura de lectura fue $18^\circ\text{C} \pm 3$, se realizaron barridos de 50 medidas con

capacidad de medir un intervalo ponderado de 0.020 a $2000 \mu\text{m}$.

2.8.1. Análisis Fractal de la textura de las micrografías de las micro y nanocápsulas

Cada una de las micrografías (MEB) de las micro y nanocápsulas fue transferida, digitalizada y posteriormente analizada utilizando el programa Sigma Scan Image Measurement Pro (Jandel Scientific Corporation, 2003), del cual se obtuvo una matriz numérica cuyos datos fueron los valores de la intensidad de los píxeles en escala de grises (0-255). Luego esta matriz numérica fue introducida en un algoritmo diseñado en el Programa Excel 2007 (Microsoft Corporation, 2008) para su análisis, el cual consistió en seleccionar matrices de tamaño diferente (N) a partir de la matriz original y calcular las diferencias entre los valores máximos y mínimos de los datos de las matrices seleccionadas (R). Posteriormente el algoritmo calculó el valor absoluto de la pendiente de la línea recta del gráfico logarítmico R vs. N. La dimensión fractal de la textura de las imágenes fue obtenida a partir de la ecuación 2 y el algoritmo diseñado fue obtenido a partir del Método de Hurst (Santacruz-Vázquez y col., 2008).

$$DF_{TEXT} = 2 + |\gamma| \quad (2)$$

Donde: γ =pendiente de la línea recta del gráfico logarítmico diferencias de los valores máximos y mínimos de las matrices seleccionadas (R) vs. Tamaño de las matrices (N).

R = diferencias de los valores máximos y mínimos de los datos de las matrices seleccionadas.

N = tamaño de las matrices de datos.

2.9 Eficiencia de encapsulación y perfil de disolución de las cápsulas de AF

Para determinar el porcentaje de eficiencia de encapsulación, se pesaron 100 mg de cápsulas en una microbalanza mod. XP6 (Mettler Toledo, Intl. Inc. España) y se colocaron en un matraz, el cual fue aforado con una solución de HCl 0.1N según la metodología propuesta por Reza Avadi y col. (2010). La muestra se colocó en un sonicador mod. CPI08891-21 (Cole Parmer, Illinois, E.U.A.) a temperatura de 37 ± 1.0 durante 30 minutos (Calero y col., 2008). Para determinar el porcentaje de eficiencia de encapsulación, el contenido de las cápsulas fue liberado en la solución y analizado por HPLC en fase inversa, empleando una bomba cuaternaria, columna

Agilente Zobax (1500mm*4.6mm*0.5mm), la fase móvil empleada fue Acetonitrilo: buffer acetato pH 3.5 en una relación 1:8 a un flujo de 0.6mL/min. Con un detector de UV se cuantificó la concentración de ácido fólico a 290nm. Las extracciones de las cápsulas se realizaron por triplicado. La curva de calibración se obtuvo con una curva patrón de ácido fólico (Merck 98%) (Breithaupt, 2001).

La eficiencia de encapsulación se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \text{Eficiencia de encapsulación(\%)} & \quad (3) \\ & = \frac{\text{mg ácido fólico}}{\text{mg ácido fólico teórico}} \times 100 \end{aligned}$$

Para determinar el perfil de disolución las microcápsulas fueron colocadas en un equipo disolutor mod SR8 (Hanson Research Co., Ca. E.U.A.). Las muestras se colocaron en el aparato y rotadas a una velocidad de 50 rpm. El ensayo se realizó empleando soluciones buffer a pH 2.5 y pH 7.2 similares al fluido gástrico e intestinal y a temperatura de $37 \pm 1.0^\circ\text{C}$. Se monitoreo el proceso de liberación en periodos de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25 y 30 minutos de agitación (Brunner y col., 2011). Las muestras fueron retiradas en los diferentes tiempos de muestreo para la determinación del AF el contenido disuelto mediante HPLC.

2.10 Modelo animal

Se utilizaron 45 ratas Wistar hembras adultas preñadas de 200 ± 20 g de peso corporal, cuya edad fue de 60 días, con un tiempo de gestación de 1 día procedentes del Bioterio Claude Bernard, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, localizado en la ciudad de Puebla, México. Las condiciones ambientales a las cuales estuvieron sometidos los animales de experimentación fueron: temperatura constante ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad relativa de 50 a 55 %, lecho de viruta con cambio cada 48 h y ciclos de luz-oscuridad de 12 x 12 h. El cuidado y manejo de los animales se realizó de acuerdo a los procedimientos aceptados nacionalmente (NOM-062-ZOO-1999). Se formaron cuatro grupos, el grupo testigo hidratado con agua purificada comercial denominado F1 y tres tratamientos más F2, F3 y F4. El grupo F2 fue hidratado con una mezcla de agua y JPMP 50:50, el tercer grupo F3 hidratado con una mezcla de agua y el JPMP (50:50) adicionado con las micro y nanocápsulas de AF; la cantidad suministrada fue calculada basándose en la administración de AF de

400µg/día Kg de peso corporal (Herrera-Batista y col., 2012). El grupo F4 fue hidratado con una mezcla de agua, JPMP (50:50) y una dosis de AF de 400µg/día Kg de peso corporal (Ácido fólico Omega®).

Todos los animales fueron sometidos durante 30 días a las dietas de hidratación establecidas y a extracciones de sangre de la vena caudal una vez por semana, de las cuales se determinó valores de hematocritos, eritrocitos y el contenido de hemoglobina.

Para medir la talla de cada uno de los ejemplares de las crías de las ratas sometidos a las dietas establecidas, se utilizó un vernier marca Mitutoyo (Mitutoyo Corp., Ohio E.U.A.) con exactitud de 0.02mm y capacidad 300mm/12". También se evaluó el peso corporal con una balanza digital con capacidad de 2 kg y sensibilidad de 1g marca Ohaus modelo CS2000 (Ohaus, Corp., NJ, E.U.A.). El seguimiento de peso de los animales se realizó diariamente por un periodo de 10 días, pesando por separado a cada una de las ratas y sus crías (Capó y col., 2004).

Posteriormente se realizaron curvas de porcentaje de Ganancia de peso vs. Tiempo de tratamiento para los diferentes grupos, tanto para el testigo como para las formulaciones propuestas. Se realizó un procedimiento similar para la determinación de la talla y peso de las crías. Se realizó el análisis de varianza unifactorial para observar las diferencias entre grupos y se utilizó el método de Schiffe para determinar las diferencias entre medias. Se consideró como significativa una $p \leq 0.05$.

Los datos de peso corporal y longitud vs. edad cronológica de las crías se ajustaron con el modelo de von Bertalanffy (Drack y Wolkenhauer, 2011; Román-Román y col., 2010). El modelo propuesto de von Bertalanffy para longitud y peso de los animales se presenta en la ecuación 4 y 5 respectivamente.

$$L = A(1 - b \exp[-kt]) \quad (4)$$

$$P = A(1 - b \exp[-kt])^3 \quad (5)$$

Donde: L=Tamaño o longitud final del animal (cm).

A=Tamaño o longitud asintótica al final del crecimiento (cm).

k =Tasa de madurez.

P=Peso final del animal (g).

La determinación de los parámetros A y k se efectuaron con una técnica iterativa de regresión no lineal (Sáez y Rittman, 1992), evaluándose la bondad a partir de la convergencia del modelo y los valores de los coeficientes de determinación no lineal R2. El modelo de von Bertalanffy fue empleado ya que

ha sido empleado en la determinación de dinámicas de crecimiento de animales de laboratorio y en seres humanos. (Noguera y col., 2008).

3 Resultados y discusión

3.1 Análisis fisicoquímico, proximal, microbiológico y evaluación sensorial del JPMP

El análisis fisicoquímico, proximal, microbiológico y evaluación sensorial del JPMP se presenta en la Tabla 1.

Los parámetros obtenidos del jugo de piña natural (SST), pH y acidez se encuentran dentro de los intervalos reportados en la literatura (Moreno, 2003; Macrae y col., 1993) los cuales dependen del grado de la madurez de la fruta. Durante el almacenamiento el jugo diseñado presentó una ligera variación en los sólidos solubles totales SST, pH, acidez y color del JPMP durante su vida útil de diez días. Con respecto al pH del jugo mínimamente procesado, los valores fueron incrementándose ligeramente de 3.05 a 3.45 al décimo día de almacenamiento, mientras que los valores de acidez y color (a, b, L) no presentaron diferencia significativa en el transcurso de su vida útil correspondiente a los 10 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración (5°C).

La determinación del análisis proximal se realizó en base a una porción de 200 g, porción similar a la presentación de los jugos comerciales enlatados. Los resultados del análisis proximal del JPMP, permitieron identificar un nulo contenido de proteínas y grasas, mientras un valor alto en azúcares. Los resultados del análisis proximal al día cero no presentaron diferencia significativa con respecto a los valores obtenidos en el día 10 de almacenamiento.

La caracterización microbiológica del JPMP fue aceptable dentro de los primeros 10 días de almacenamiento, posterior a este periodo las UFC de colonias de hongos se incrementaron significativamente. La población microbiana máxima del JPMP al día 10 de almacenamiento fue aceptable según la NOM-093-SSA1-1994, norma que regula la población microbiana máxima de productos para consumo humano. La aceptación sensorial del producto fue aceptable, durante los primeros 10 días de almacenamiento, ya que posterior a este periodo el descriptor sensorial olor fue diferente al original indicando el final de la vida útil del JPMP desde el punto de vista sensorial.

3.2 Evaluación de características morfológicas de las micro y nanocápsulas de AF

Los valores promedios de la humedad final de las micro y nanocápsulas de AF oscilaron entre 0.115 y 0.123 Kg H₂O/Kg s.s. El contenido de humedad de las cápsulas de AF reportado al final del secado fue relativamente bajo permitiendo la estabilidad del encapsulado y con ello asegurar la baja probabilidad de ocurrencia de fenómenos de agregación y apelmazamiento de las cápsulas durante el almacenamiento previo a su adición al JPMP. Las micro y nanocápsulas obtenidas presentaron un color blanco y su apariencia correspondía a un sólido pulverizado.

En la Fig. 1 se presenta la forma esférica con superficie agrietada de las micro y nanocápsulas de AF resultado de la deshidratación durante el secado por aspersión. La morfología presentada por las cápsulas de AF está acorde a los resultados reportados por otros autores; Dong y col. (2011) obtuvieron microcápsulas de aceites que presentaron formas esféricas hasta irregulares. Weinbreck, y col., (2004) obtuvieron microcápsulas de aceites esenciales de limón y naranja, con una superficie típica dentada. Teixeira y col. (2004) obtuvieron microcápsulas de ácido grasos de cadena corta por secado por aspersión empleando como encapsulante a la goma arábiga y la maltodextrina, en proporciones de 5 -10%. Las microcápsulas obtenidas presentaron estructuras con contracciones que se caracterizaron por superficies dentadas, similares a las obtenidas en este trabajo.

En la Fig. 1 se presentan los valores de la DF_{TEXT} parámetro descriptor de la rugosidad de la superficie de las cápsulas, con valores promedio de 2.587 ± 0.016 para las microcápsulas y 2.542 ± 0.025 para las nanocápsulas. Quintanilla-Carvajal y col. (2010) determinaron los cambios morfométricos de microcápsulas de alfatocoferol con encapsulante de goma arábiga a partir de secado por aspersión, reportando valores de la DF_{Text} que oscilan entre 2.646-2.699, valores similares a los reportados en este estudio (Quintanilla-Carvajal y col., 2011).

En la Fig. 1 se reporta el perfil de distribución de tamaño de partícula para las micro y nanocápsulas obtenidas. El diámetro promedio de las cápsulas presentó un intervalo de $1.215 \pm 0.52 \mu\text{m}$ que corresponde a nanocápsulas de diámetro de 695nm hasta microcápsulas de $1.735 \mu\text{m}$, datos que se apegan según la clasificación reportada por Wang y col. (2010) cuyos diámetros son microcápsulas (1-1000 μm) y nanocápsulas (1-1000nm) respectivamente.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica, sensorial y microbiológica del jugo de piña mínimamente procesado.

Caracterización fisicoquímica		
Parámetro	Días de almacenamiento	
	0 Días	10 Días
a_w	0.88±0.02	0.88±0.02
pH	3.05±0.02 ^a	3.45±0.02 ^a
Color	L=41.77	L=42.98
	a= 7.42	a= 6.23
	b=68.86	b=71.01
Sólidos solubles Totales	20.00±0.5	19.00±0.5
Acidez	0.81±0.02	0.85±0.01
Índice de Madurez	0.24±0.09	0.22±0.03
Análisis proximal/ porción 1 porción= 200g		
Parámetro	0 Días	10 Días
Humedad expresado en b.h.	85±0.58	85±0.65
Proteínas	0	0
Lípidos	0	0
Fibra Cruda	1.52±0.22	1.52±0.31
Cenizas	0.85±0.10	0.85±0.12
Carbohidratos	20±0.5	20±0.8
Valor Energético (Kcal)	368.36	368.36
Caracterización microbiológica		
UFC	0 Días	10 Días
Hongos y levaduras	< 10	< 10
Mesófilos aerobios	< 10	< 10
Caracterización sensorial		
Descriptor sensorial	0 Días	10 Días
Sabor	6.44±0.13	6.31±1.58
Color	6.85±0.23	6.72±0.88
Olor	6.21±1.05 ^b	5.45±0.95 ^b
Aceptación general	6.25±0.26 ^c	6.16±0.52 ^c

Valores (media±desviación estándar, n=5) in el mismo renglón con letras iguales son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

3.3 Eficiencia de Encapsulación y disolución de las micro y nanocápsulas de AF

La concentración de AF teórica en las cápsulas se obtuvo a partir de un balance de materia, donde la concentración p/p de la suspensión agua: goma: AF fue 0.770:0.180:0.050; después del secado por aspersión la concentración p/p del agua: goma: AF fue 0.103:0.703:0.194, dado que durante el proceso de secado por aspersión se eliminó el 96.5% del agua

contenida y con ello las concentraciones de AF y goma se incrementaron, presentando una concentración teórica del AF en las cápsulas de 19.4% expresado como 19.4mg/100mg.

Las micro y nanocápsulas se analizaron por HPLC encontrando un contenido de 13.3mg de AF/100mg. La aplicación de la ecuación 1 permitió establecer los valores de eficiencia entre el 65-75%. Este resultado puede ser atribuible a la propiedad de la GA para formar películas y encapsular principios activos con baja y mediana solubilidad en agua.

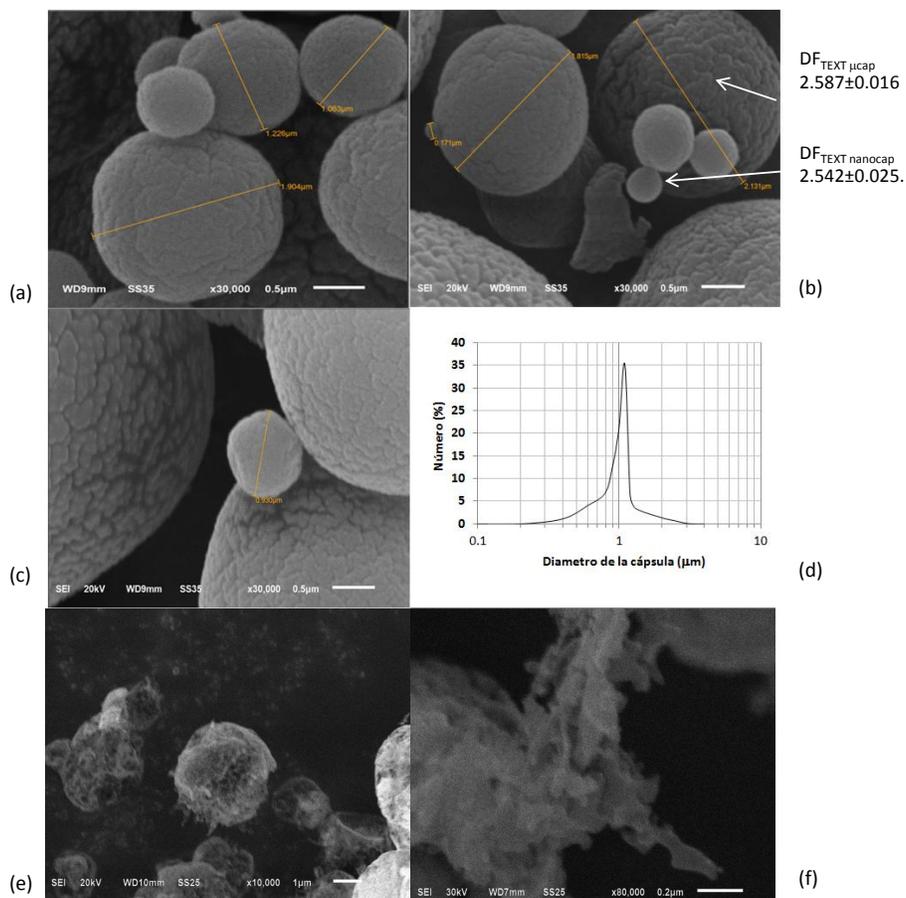


Fig. 1. Micrográficas de micro y nanocápsulas de AF por microscopía electrónica de barrido usando una amplificación de 30000X (a, b, c), análisis de distribución de tamaño de partícula de las cápsulas obtenidas (d) microcápsulas fracturadas de AF durante el proceso de rehidratación pH 7.2 (e) microcápsulas fracturadas de AF durante el proceso de rehidratación pH 2.5 (f). Los valores numéricos en la parte superior de la figura corresponden a la DF_{TEXT} de las cápsulas.

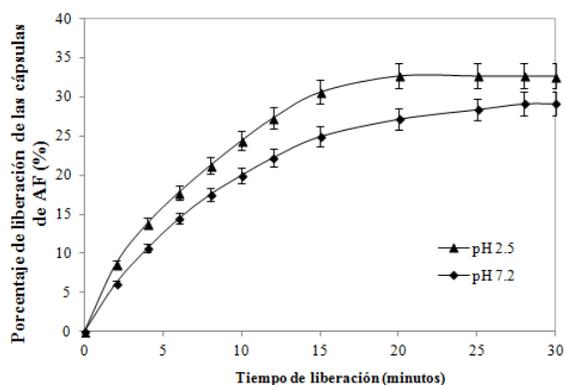


Fig. 2. Perfiles de liberación de las cápsulas de AF en solución buffer a 37°C y pH de 7.2 y 2.5.

Kanakdande y col. (2007) reportaron la eficiencia alta de mezclas de GA para la encapsulación de

oleorresinas, Mercadante y col. (2005) reportaron una eficiencia de encapsulación de 86% al encapsular bixina con GA, mientras que Young and Morr (2006) reportaron que la GA no logró la encapsulación de aceite de naranja, estos resultados difieren de los obtenidos en estudio dado la naturaleza no polar del aceite de naranja.

Para el método de extracción se realizaron ensayos preliminares buscando las condiciones para romper las paredes de las cápsulas y liberar el compuesto. En la Fig. 1 se presentan las micrográficas de las cápsulas fracturadas durante el proceso de rehidratación a pH de 7.2 y 2.5, estableciendo que existió la hidratación, ruptura y destrucción de la membrana polimérica, liberando al AF encapsulado. En la Fig. 2 se presenta el porcentaje de AF liberado en la solución buffer

durante los primeros 30 minutos.

Existe una fuerte influencia del pH de la solución en el proceso de liberación de las cápsulas de AF; en los primeros 15 minutos se observa que la velocidad de liberación es mayor, seguido de un periodo (15-30 minutos) en el cual la liberación va disminuyendo hasta presentar un comportamiento asintótico. El máximo porcentaje de liberación para la solución buffer pH 2.5 fue 30.8% y se presentó a los 15 minutos, mientras que para la solución pH 7.2, el valor máximo de 28.5% se presentó a los 28 minutos. El análisis estadístico indicó que existió diferencia significativa entre los perfiles de liberación de las cápsulas de AF para los dos diferentes pH estudiados ($p \leq 0.05$). De tal forma que la estructura de goma arábiga de la nanocápsula formada presenta una pared compacta que favorece el atrapamiento del AF pero dificulta en cierto grado su liberación.

Resultados similares fueron reportados para la cinética de liberación de nanopartículas de insulina empleando quitosano y goma arábiga Reza-Abdabi y col. (2010); autores que obtuvieron una mayor liberación de la insulina en presencia de soluciones ácidas en comparación con la obtenida en soluciones alcalinas. Durante la agitación las moléculas de la goma arábiga (complejos de arabinogalactano) presentan diferentes asociaciones moleculares, siendo menos densas en soluciones ácidas y más densas en soluciones alcalinas, lo que permite una mayor hidratación y rompimiento de las cápsulas a condiciones de pH 2.5. Este resultado concuerda con el deterioro encontrado en las micrografías de las cápsulas fracturadas de AF durante el proceso de rehidratación a pH 7.2 y 2.5 (Fig. 1). Li y col. (2009) propusieron que durante el proceso de agitación de soluciones de goma guar, se presentan diferentes estados de aglomeración, redes, clusters o relajación de las estructuras de arabinogalactano, mismas que se encuentran en equilibrio y son dependientes de las condiciones de acidez. Durante el proceso de adición de las cápsulas al JPMP, las condiciones de liberación no están presentes especialmente la agitación, lo que hace suponer que las cápsulas se liberaron en el interior del tubo gástrico de los animales de experimentación y no en el jugo mínimamente procesado.

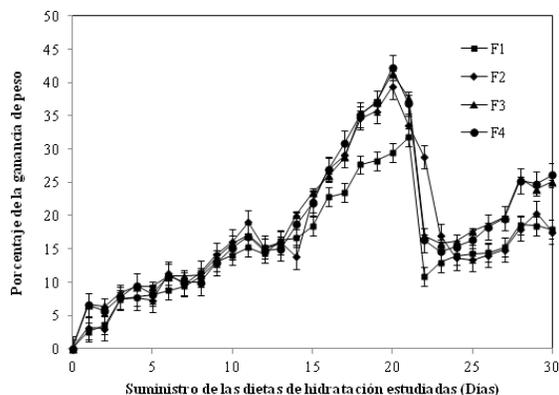


Fig. 3. Ganancia de peso de las ratas alimentadas con las formulaciones estudiadas.

3.4 Aplicación en modelo animal

La Fig. 3 presenta las variaciones de la ganancia de peso experimentada por las ratas preñadas durante el tiempo en el cual fueron hidratadas con las formulaciones propuestas, observando una mayor ganancia de peso de los animales durante los primeros 21 días (tiempo de gestación).

Posterior a esta fecha, las ratas presentaron un decremento de la ganancia de peso, ya que se encontraron en el periodo postgestación. El análisis estadístico ($p \leq 0.05$) reportó que no existieron diferencias significativas entre los animales hidratados con agua (F1) y los hidratados con el JPMP (F2, F3 y F4), la ingestión de la bebida propuesta no generó un aumento de peso en las ratas durante el periodo de gestación y postgestación.

En la Tabla 2 se presentan los valores medios de hematocrito, hemoglobina y eritrocitos de los animales sometidos a las dietas de hidratación al día 1, 10 y 20 de su administración. Se observa que existió un decremento de los contenidos de hemoglobina, hematocritos y eritrocitos en el plasma de las ratas a lo largo del tiempo de experimentación, debido al estado de preñez. Los valores medios de hematocritos y hemoglobina durante los 30 días de tratamiento fueron significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) en los 4 grupos experimentales, con valores mayores en los animales hidratados con AF (F3 y F4).

Se observó que la administración del AF encapsulado favoreció tanto el incremento de la formación de hemoglobina, de hematocritos y consecuentemente de los niveles de hierro en plasma, corroborando los efectos benéficos de la ingesta del JPMP en los estados nutricionales experimentales de

Tabla 2. Valores medios ($\bar{X} \pm DE$) de hemoglobina (Hb), hematócrito (Hto) y eritrocitos en plasma de ratas alimentadas con las formulaciones F1, F2, F3 y F4 al día 1, 10, 20 de gestación

1 DÍA DE GESTACIÓN			
Grupo	Hematocrito (%)	Hemoglobina (mg/dL)	Eritrocitos ($10^6/L$)
F1	32.01 \pm 2.56	15.42 \pm 1.52	804.00 \pm 21.23
F2	33.74 \pm 3.67	14.84 \pm 0.89	816.67 \pm 18.98
F3	32.14 \pm 3.43	14.81 \pm 0.77	802.10 \pm 12.74
F4	32.28 \pm 3.23	15.21 \pm 0.48	812.00 \pm 15.26
10 DÍAS DE GESTACIÓN			
F1	41.24 \pm 6.34 ^a	14.23 \pm 1.89 ^b	670.33 \pm 20.56 ^c
F2	34.00 \pm 4.78 ^a	12.78 \pm 0.98 ^b	720.48 \pm 10.93 ^c
F3	43.33 \pm 3.90 ^a	16.18 \pm 1.20 ^b	803.00 \pm 15.89 ^c
F4	45.87 \pm 3.25 ^a	16.27 \pm 1.32 ^b	812.28 \pm 16.24 ^c
20 DÍAS DE GESTACIÓN			
F1	32.18 \pm 3.02 ^d	14.23 \pm 1.59 ^e	423.67 \pm 18.34 ^f
F2	31.72 \pm 2.56 ^d	16.78 \pm 0.87 ^e	426.00 \pm 17.12 ^f
F3	38.65 \pm 1.78 ^d	17.89 \pm 1.68 ^e	650.33 \pm 13.45 ^f
F4	39.47 \pm 2.89 ^d	18.47 \pm 1.87 ^e	655.22 \pm 14.11 ^f

Valores (media \pm desviación estándar, n=3) en la misma columna con letras iguales son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

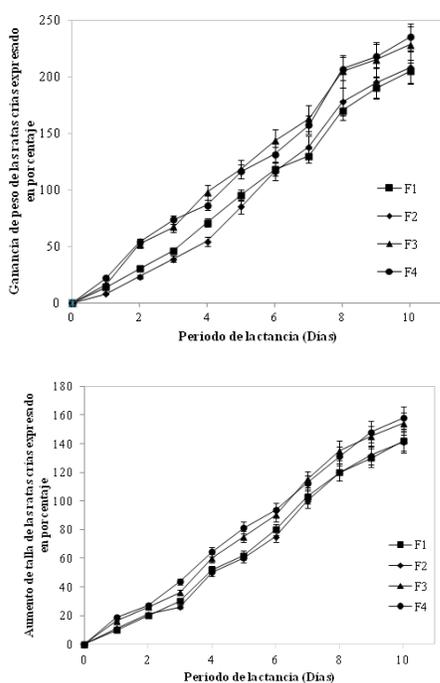


Fig. 4. a) Ganancia de peso b) aumento de talla de las crías.

las ratas en estudio (Fuchs y col., 2006; Gregory III y

col., 2005).

La Fig. 4a y 4b muestra la ganancia de peso y el porcentaje del aumento de talla experimentado por las crías de las ratas madres hidratadas con las formulaciones F1, F2, F3 y F4, las cuales fueron monitoreados y analizados 8 días a partir de la fecha de nacimiento. Los resultados experimentales mostraron que las crías de los dietas F3 y F4 presentaron una mayor ganancia de peso 9 % y un mayor aumento de talla del 10 %, en relación con los datos obtenidos de las crías de los animales hidratados con F1 y F2, sugiriendo que el consumo del JPMP fortificado con las nanocápsulas de ácido fólico F3 por parte de la rata permitió un rápido crecimiento de sus crías. El análisis estadístico indicó que existió diferencia significativa en la ganancia de peso y el aumento de talla de las crías de todos los tratamientos ($p \leq 0.05$).

La aplicación del modelo de von Bertalanffy a los datos de peso corporal-edad y longitud-edad para cada cría, convergieron en una solución. En la Tabla 3 se observan los valores de R^2 y de P correspondientes a los ajustes de los datos promedio.

Tabla 3. Valores de los estimadores A, b y K, probabilidad y R² correspondientes a los ajustes de los datos promedios durante el crecimiento de las crías en el modelo von Bertalanffy

	A	B	k	R ²	P
Longitud- edad crías					
F1	20.989 ^a	0.750 ^b	0.050 ^c	0.958	0.659
F2	21.180 ^a	0.820 ^b	0.058 ^c	0.968	0.561
F3	22.421 ^a	0.780 ^b	0.059 ^c	0.974	0.622
F4	22.500 ^a	0.780 ^b	0.060 ^c	0.953	0.550
Peso - Edad crías					
F1	180.000 f	0.780 g	0.280 h	0.951	0.903
F2	181.000 f	0.820 g	0.260 h	0.956	0.815
F3	185.000 f	1.040 g	0.430 h	0.969	0.866
F4	185.000 f	1.040 g	0.410 h	0.952	0.932

Valores (media±desviación estándar, n=3) en la misma columna con letras iguales son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Los valores de R² encontrados fueron superiores al 95%, lo que hace suponer que el modelo propuesto describe adecuadamente los datos experimentales del crecimiento de las crías.

En las ecuaciones de longitud y peso del modelo de von Bertalanffy, los parámetros A y k son indicadores del crecimiento del animal, A representa la dimensión (longitud y peso) al finalizar el crecimiento del animal, mientras que k es denominada la tasa de madurez.

En la Tabla 3 se presentan los valores de A y k del modelo de von Bertalanffy. Estableciendo que las formulaciones F3 y F4 presentaron para la longitud como para la ganancia de peso de las crías, valores de A y k superiores a los reportados por las formulaciones F1 y F2. El análisis estadístico para los valores de A y k muestra que no existió diferencia significativa para las formulaciones F3 y F4, ($p \leq 0.05$) pero si fue evidente la diferencia con los parámetros obtenidos de las formulaciones F1 y F2. Las crías de los animales hidratados con F1 y F2 mostraron patrones de crecimiento similar y menor que el registrado para las crías de los animales hidratados con F3 y F4.

Los resultados de la aplicación del modelo de von Bertalanffy a los datos de peso corporal-edad y longitud-edad para cada cría avalan la importancia de emplear los modelos predictivos para identificar y diagnosticar la vulnerabilidad durante el crecimiento de las de los animales y con ello planear la ingesta de nutrimentos empleando como vehículo el JPMP adicionado con las micro y nanocápsulas.

Conclusiones

El ácido fólico (AF) es una vitamina del complejo B que juega un papel fundamental en diversos procesos fisiológicos, no obstante esta vitamina es susceptible de deterioro térmico y fotosensible; siendo necesaria su protección mediante la micro y nanoencapsulación con goma arábiga como material encapsulante. Las micro y nanocápsulas de AF (0.695 μm -1.735 μm), fueron adicionadas al jugo de piña mínimamente procesado y posteriormente este fue empleado como vehículo para su administración en los animales de experimentación.

De los resultados se concluye que el consumo adecuado del jugo adicionado con las micro y nanocápsulas de AF en la dieta diaria de las ratas madre durante el periodo de gestación incidió en una concentración mayor de hemoglobina en el plasma y un crecimiento mayor de sus crías. El modelo de von Bertalanffy describió adecuadamente el incremento del peso y longitud de las crías. De tal forma que el suministro del AF nanoencapsulado podría ser una opción para su suministro en pacientes renuentes a la ingesta del AF en comprimidos.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico para la realización de este artículo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología proyecto 2009-132983.

Se agradece el apoyo al Centro de Vinculación Universitario (BUAP) por las facilidades para el uso del microscopio electrónico de barrido, en especial al Dr. Efraín Rubio Rosas.

Nomenclatura

% Ac	Porcentaje de acidez (g de ácido/100g de jugo)
m	masa del jugo (g)
V _o	Volumen de la muestra de jugo para ensayo (ml)
V ₁	Volumen de la solución de hidróxido de sodio utilizada para la determinación (ml)
C	Concentración de la solución de hidróxido de sodio (mol/l)
F	Factor correspondiente al ácido mayoritario en el jugo (ácido cítrico f=0.064)
L	Tamaño o longitud final del animal (cm)

- A Tamaño o longitud asintótica al final del crecimiento (cm)
K Tasa de madurez
P Peso final del animal (g)
N Tamaño de las matrices de datos
R Diferencias de los valores máximos y mínimos de los datos de las matrices seleccionadas
 γ pendiente de la línea recta del gráfico logarítmico diferencias de los valores máximos y mínimos de las matrices seleccionadas (R) vs. Tamaño de las matrices (N).

Referencias

- A.O.A.C. (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th edition Arlington Virginia: Association of Official Analytical Chemists International. E.U.A.
- Akhtar, M.J., Khan, M.A. y Ahmad, I. (2003). Identification of photoproducts of folic acid and its degradation pathways in aqueous solution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 31, 579-588.
- Barbosa, M.L.M., Borsarelli, C.D. y Mercadante, A.Z. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International* 38, 989-994.
- Breithaupt, D.E. (2001). Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction. *Food Chemistry* 74, 521-525.
- Brunner, C.T., Türker Baran, E., Duarte Pinho, E., Reis, R.L. y Meleiro Neves, M. (2011). Performance of biodegradable microcapsules of poly(butylene succinate), poly(butylene succinate-co-adipate) and poly(butylene terephthalate-co-adipate) as drug encapsulation systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 84, 498-507.
- Calero, J., Sánchez, Y.F., Tórrez, R., Hernann, E., López, K. (2008). Elaboración y caracterización de microcápsulas gastroresistentes de diclofenac obtenidas por gelificación iónica. *Universitas* 1, 27-30.
- Capita, R. y Calleja, C.A. (2006). Evaluation of vitamin and mineral intakes and impact of snack foods on Spanish adults. *Nutrition Research* 26, 255-265.
- Capó, J.T., Chanfrau, J.R., Gómez, M.J., Pardo, R.Z., y Agüero, F.S. (2004). Actividad antianémica de la *Cassia grandis* L. *Revista Cubana Farmacéutica* 38, 3. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol38_3_04/far09304.htm. Accesado: 17 septiembre 2012.
- Carrillo-Navas, H., González-Rodea, D.A., Cruz-Olivares, J., Barrera-Pichardo, J.F., Román-Guerrero, A. y Pérez-Alonso, C.P. (2011). Storage stability and physicochemical properties of passion fruit juice microcapsules by spray-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10, 421-430.
- Champagne, C. y Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology* 18, 184-190.
- Dong, Z., Ma, Y., Havat, K., Jia, Ch., Xia, S. y Zhang, S. (2011). Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *Journal of Food Engineering* 104, 455-460.
- Drack, D. y Wolkenhauer, O. (2011). System approaches of Weiss and Bertalanffy and their relevance for systems biology today. *Seminar in Cancer Biology* 21, 150-155.
- Fassiatou, T., Van Allen, M.I., Uh, S., Brian, R., Sibbald, B., Evans, J.A., Van den Hof, M.C., Zimmer, P., Crowley, M., Fernandez, B., Lee, N. y Niyonsenga, T. (2007). Reduction in neural-tube defects after folic acid fortification in Canada. *The New England Journal of Medicine* 357, 135-142.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M., Ordonnaud, C., Peyrat M. y Dumoulin E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering* 75, 27-35.
- Gharsallaoui, A. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40, 1107-1121.

- Gliszczyńska-Świgło, A. (2007). Folates as antioxidants. *Food Chemistry* 101, 1480-1483.
- Green, T.J., Skeaff, C., Whiting, S.J. y Gibson, R.S. (2003). Effect of folic acid supplementation on plasma zinc concentrations of young women. *Nutrition* 19, 522-523.
- Gregory III, J.F., Quinlivan, E.P. y Davis, S.R. (2005). Integrating the issues of folate bioavailability, intake and metabolism in the era of fortification. *Trends in Food Science & Technology* 16, 229-240.
- Herrera Batista, A., Taylín Zumeta Dubé, M. y González Bravo, M. (2012). Effects of folic acid on some morphometric variables of the thymus of adolescent rats with fetal alcohol syndrome. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol31_1_12/ibi07112.htm. Accesado: 17 septiembre 2012.
- Herrmann, W. y Obeid, R. (2011). The Mandatory Fortification of Staple Foods With Folic Acid. *Deutsches Ärzteblatt International* 108, 249-254.
- Jayapriya, R., Shanmugham, J.R., Zavras, A.I., Rosner, B.A. y Giovannucci, E.L. (2010). Alcohol-folate interactions in the risk of oral cancer in women: A prospective cohort study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 19, 2516-2524.
- Kam, K., Murray, J.M., Arcot, J. y Ward, R. (2012). Fortification of parboiled rice with folic acid: Consumer acceptance and sensory evaluation. *Food Research International* 49, 354-363.
- Kanakdande, D., Bhosale, R. y Singhal, R.S. (2007). Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers* 67, 536-541.
- Lee, J.Y., Park, H.J., Lee, C.Y., Choi, W.Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *LWT-Food Science and Technology* 36, 323-329.
- Li, X., Fang, Y., Al-Assaf, S., Phillips, G.O., Nishinari, K. y Zhang, H. (2009). Rheological study of gum arabic solutions: Interpretation based on molecular self-association. *Food Hydrocolloids* 23, 2394-2402.
- Linabery, A.M., Johnson, K.J. y Ross, J.A. (2012). Childhood Cancer Incidence Trends in Association With US Folic Acid Fortification (1986-2008). *Pediatrics* 129, 1125-1133.
- Liu, J., Hesson, L.B., Meagher, A.P., Bourke, M.J., Hawkins, N.J., Rand, K.N., Molloy, P.L., Pimanda, J.E. y Ward, R.L. (2012). Relative distribution of folate species is associated with global DNA methylation in human colorectal mucosa. *Cancer Prevention Research* 5, 921-929.
- Macrae, R., Robinson, R.K. y Sadler, M.J. (1993). *Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*. Academic Press. New York.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release a review. *International Journal Food Science & Technology* 41,1-21.
- Madziva, H., Kailasaphaty, K. y Phillips, M. (2006). Evaluation of alginatepectin capsules in cheddar cheese as a food carrier for the delivery of folic acid. *Journal Food Science and Technology* 39, 146-151.
- Mercadante, A.Z., Barbosa, M.L.M. y Borsarelli, C.D. (2005). Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International* 38, 989-994.
- Merck Index. (1989). *Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. 9^a ed.: Merck Company, Estados Unidos.
- Moreno L. (2003). *Dependencia en la temperatura de cambio en atributos sensoriales, inactivación enzimática y microbiana y degradación de ácido ascórbico durante tratamientos de pasterización en purés y néctares de mango-piña*. Tesis de maestría de Ciencias de Alimentos. Universidad de las Américas-Puebla, México.
- Mosqueda-Melgar, J., Raybaudi-Massilia, R.M. y Martín-Belloso, O. (2012). Microbiological shelf life and sensory evaluation of fruits juices treated by high-intensity pulsed electric fields and antimicrobials. *Food and Bioprocess Technology* 90, 205-214.

- Moura, M.R., Aouada, F.A., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., Krochta, J.M., Mattoso, L.H.C. (2009). Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *Journal of Food Engineering* 92, 448-453.
- Noguera, R.R., Pereira, R.L. y Solarte, C.E. (2008). Comparación de modelos no lineales para describir curvas de crecimiento en cuyes (*cavia porcellus*) desde el nacimiento hasta la edad de sacrificio. *Livestock Research for Rural Development* 20, 79.
- Norma Oficial Mexicana -062-ZOO-1999. (1999). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Disponible en: <http://www.fmz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>. Accedido: 14 de septiembre 2012.
- Norma Oficial Mexicana -093-SSA1-1994. (1994). <http://www.bidihmujer.salud.gob.mx/documentos/leyes/NOM-093-SSA1-1994%20preparacion%20alimentos%20establec%20fijos.pdf>. Accedido: 17 septiembre 2012.
- Paschoal-Prado, R., Fornazari dos Santos, B., Lombardi de Souza Pinto, C., Carvalho de Assis, K.R., Fávero Salvadori, D.M. y Plácido Ladeira, M.S. (2010). Influence of diet on oxidative DNA damage, uracil misincorporation and DNA repair capability. *Mutagenesis* 25, 483-487.
- Pérez-Alonso, C., Fabela-Morón, M.F., Guadarrama-Lezama, A.Y., Barrera-Pichardo, J.F., Alamilla-Beltrán, L. y Rodríguez-Hueso, M.E. (2009). Interrelationship between the structural features and rehydration properties of spray dried manzano chilli sauce microcapsules. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 8, 187-196.
- Phillips, A., Williams, P.A. (2003). *Handbook of hydrocolloids*. Editorial Woodhead, Estados Unidos.
- Pulido, A. y Beristain, C.I. (2010). Encapsulación de ácido ascórbico mediante secado por aspersión utilizando quitosano como material de pared. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 9, 189-195.
- Quintanilla-Carvajal, M.X., Meraz-Torres, L.S., Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J.J., Jaramillo, F.M.E., Hernández-Sánchez, H., Jiménez-Aparicio, A.R. y Gutiérrez-López, G.F. (2010). *Eficiencia de encapsulación de micro y nanoemulsiones de alfa tocoferol y evaluación de la morfología de las microcápsulas*. Presentación ALI33420091229. 24-26 Marzo. Acapulco, Guerrero. XVIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, 2010.
- Quintanilla-Carvajal, M.X., Meraz-Torres, L.S., Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J.J., Terres-Rojas, E., Hernández-Sánchez, H., Jiménez-Aparicio, A.R. y Gutiérrez-López, G.F. (2011). Caracterización morfométrica de microcápsulas secadas por aspersión antes y después de la extracción de α -tocoferol. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10, 273-279.
- Reza Avadi, M., Sadeghi, A.M.M., Mohammdpour, N., Abedin, S., Atyabi, F., Dinarvand, R. y Rafiee-Tehrani, M. (2010). Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6, 58-63
- Román-Román, P., Romero, D., Torres-Ruiz, F. (2010). A diffusion process to model generalized von Bertalanffy growth patterns: Fitting to real data. *Journal of Theoretical Biology* 263, 59-69.
- Sáez, P.B. y Rittman, B.E. (1992). Model-parameter estimation using least squares. *Water Research* 26, 789-796.
- Santacruz-Vázquez, V., Santacruz-Vázquez, C., Welti-Chanes, J., Farrera-Rebollo, R.R., Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J. y Gutiérrez-López, G.F. (2008). Effects of airdrying on the shrinkage, surface temperatures and structural features of apples slabs by means of fractal analysis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7, 55-63.
- Teixeira, M., Andrade, L.R., Farina, M. y Rocha-Leão, M.H.M. (2004). Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Materials Science and Engineering C* 24, 653-658.

- Tzu-Yuan, Ch., Kang-Ju, Ch., Chin-Feng, T., Hsiao-Min, Ch., Hua-Chang, F., Yao-Min, H., Ming-Jei, W., Huey-Ming, T. y Kuo-Cheng, Lu. (2007). Effects of folic acid and vitamin B complex on serum C -reactiveprotein and albumin levels in stable hemodialysis patients. *Current Medical Research & Opinion* 23, 1879-1886.
- Vora, A., Riga, R., Dollimore, D. y Kenneth, S.A.R. (2002). Thermal stability of folic acid. *Thermochimica Acta* 392-393, 209-220.
- Wang, X., Yucel, T., Lu, Q., Hu, X. y Kaplan, D.L. (2010). Silk nanospheres and microspheres from silk/pva blend films for drug delivery. *Biomaterials* 31, 1025-1035.
- Weinbreck, F., Minor, M. y De Kruif, C.G. (2004). Microencapsulation of oils using whey protein/gum Arabic coacervates. *Journal of Microencapsulation* 21. 667-679.
- Yadav, M.P., Igartuburu, J.M., Yan, Y. y Nothnagel, N.A. (2007). Chemical investigation of the structural basis of the emulsifying activity of gum arabic. *Food Hydrocolloid* 21, 297-298.
- Young, D.K. y Morr, Ch.V. (2006). Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: Liquid orange oil emulsion particles. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 44, 1314-1320.
- Younis, I.R., Stamatakis, M.K., Callery, P.S. y Meyer-Stout, P.J. (2009). Influence of pH on the dissolution of folic acid supplements. *International Journal of Pharmaceutics* 367, 97-102.