



ENCAPSULACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN, UTILIZANDO QUITOSANO COMO MATERIAL DE PARED

SPRAY DRIED ENCAPSULATION OF ASCORBIC ACID USING CHITOSAN AS WALL MATERIAL

A. Pulido y C.I. Beristain*

Instituto de Ciencias Básicas. Universidad Veracruzana.

Av. Dr. Rafael Sánchez Altamirano s/n Col. Industrial-Ánimas, Xalapa, Ver. 91190, México

Recibido 16 de Diciembre 2009; Aceptado 13 de Julio 2010

Resumen

Una solución de quitosano, ácido ascórbico y tripolifosfato fue preparada y secada por aspersión para obtener microcápsulas de ácido ascórbico. Se hizo un estudio de estabilidad almacenando las microcápsulas a 35°C y a diferentes actividades de agua (0.108 a 0.743) por 60 días. El rendimiento de microencapsulación fue de 78 %. La mejor morfología de las microcápsulas y la menor degradación de ácido ascórbico se presentaron a una actividad de agua de 0.108 y 35°C durante 60 días de almacenamiento.

Palabras clave: estabilidad, ácido ascórbico, microencapsulación, quitosano.

Abstract

A solution of chitosan, ascorbic acid and tripolyphosphate was prepared and dried by spray drying to obtain microcapsules of ascorbic acid. A study of stability was made storing at 35°C and different water activities (from 0.108 to 0.743) during 60 days. The yield of microencapsulation was 78 %. The best morphology and the less degradation for microcapsules was 6.4 % at water activity of 0.108 and 35°C for 60 days of storage.

Keywords: stability, ascorbic acid, microencapsulation, chitosan.

1 Introducción

El L-ácido ascórbico es una vitamina hidrosoluble que actúa como antioxidante y como secuestrador de radicales libres, lo cual le confiere diversas funciones en nuestro organismo (Braverman, 1978). En la industria de los alimentos, el ácido ascórbico es utilizado por dos razones: como suplemento vitamínico y como antioxidante proporcionando protección en la calidad nutricional y sensorial de los alimentos (Desai y Park, 2004). Sin embargo presenta una alta inestabilidad frente a ciertos factores del medio ambiente; la causa principal de su deterioro es la oxidación, provocando así la pérdida de su

estructura activa y la formación de compuestos sin actividad biológica, además de compuestos con sabor y precursores del oscurecimiento no enzimático (Trindade y Grosso, 2000).

Una vía para proteger al ácido ascórbico de reacciones de degradación es la microencapsulación, la cual es definida como un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de impedir su pérdida, para protegerlas de la reacción con otros compuestos y/o para impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno (Yáñez y col., 2002).

Existen varias técnicas para el encapsulamiento

*Autor para la correspondencia. E-mail: cberistain@uv.mx

de ingredientes, la selección del método está en función del presupuesto, los costos, las

deseado de las microcápsulas y de los mecanismos de liberación (Ré, 1998). El secado por aspersión es ampliamente usado en la industria como un método para microencapsular debido a que es económico y efectivo en la protección de materiales tales como sabores, vitaminas, aceites esenciales, colorantes y lípidos (Yáñez *y col.*, 2002). Por definición corresponde a la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado caliente (Ré, 1998).

Existe una amplia variedad de materiales para cobertura que pueden ser usados para encapsular ingredientes alimentarios, uno de ellos es el quitosano, polisacárido catiónico, derivado de la quitina, compuesto esencialmente de enlaces $\beta(1 \rightarrow 4)$ de unidades de glucosamina y *N*-acetilglucosamina, con propiedades gelificantes y reticulantes. Es un polímero biocompatible, biodegradable y no tóxico con diversas aplicaciones en la industria alimentaria, medicina y farmacéutica. En años recientes, debido a las características que posee tales como protector coloidal, baja viscosidad a altos contenidos de sólidos y buena solubilidad (Gharsallaoui *y col.*, 2007), ha sido usado como material de pared para encapsular sustancias bioactivas y en el desarrollo de sistemas de liberación de sustancias (Peniche *y col.*, 2003). Hassan *y col.* (1992) y Ohya *y col.* (1993) desarrollaron microcápsulas de quitosano ($< 10\mu\text{m}$) para la liberación específica de agentes anticancerígenos. Desai y Park (2004) microencapsularon vitamina C utilizando quitosano como material de pared, sin embargo no existen estudios de estabilidad de estas microcápsulas.

El propósito de este trabajo fue microencapsular ácido ascórbico mediante secado por aspersión utilizando como material de pared al quitosano y estudiar su estabilidad y su morfología a diferentes actividades de agua.

2 Materiales y métodos

2.1 Materiales

El L-ácido ascórbico con 99.7% de pureza fue adquirido en la empresa Merck & Co. (Kelco Div., Rahway, N.J., E.U.A.), el quitosano

propiedades del material a encapsular, el tamaño

(peso molecular medio) adquirido en Sigma-Aldrich Chemie (Steinheim, Alemania), el ácido acético, tripolifosfato de sodio (como agente entrecruzante) y ácido clorhídrico fueron de grado analítico, agua ultrapurificada se utilizó a través de todo el estudio.

2.2 Preparación de las microcápsulas de ácido ascórbico y quitosano

Se prepararon 250 mL de una solución de quitosano (1 % p/v) utilizando una solución acuosa de ácido acético (1 % p/v), posteriormente se hizo una solución de ácido ascórbico utilizando 2.5 g del mismo y 10 mL de agua, dicha solución se agregó a la solución de quitosano y se agitó a 4000 rpm por 20 minutos; 10 mL de una solución acuosa de tripolifosfato de sodio (TPP al 1 % p/v) se agregó por goteo bajo agitación constante a 4000 rpm por 30 minutos (Desai y Park, 2004). Posteriormente se alimentó a un secador por aspersión marca Buchi mod. 190 (Buchi Laboratorium Technik, Flawil, Switzerland), utilizando una boquilla con un diámetro de 0.5 mm, la temperatura de entrada de secado (Ti) fue de $T_i = 180 \pm 5^\circ\text{C}$ y una temperatura de salida de secado de $110 \pm 5^\circ\text{C}$.

2.3 Determinación de ácido ascórbico

La determinación de ácido ascórbico se hizo mediante el método espectrofotométrico de la derivada de segundo orden (Pfundt *y col.*, 2003). Para conocer la concentración de ácido ascórbico en las microcápsulas, se pesó 25 mg de microcápsulas y se colocó en un matraz aforado de 50 mL y se aforó con HCl 0.1 M, después se agitó hasta que la muestra estuviera disuelta, se filtró y se centrifugó el contenido del matraz a 4000 rpm por 15 minutos con el objetivo de quitar material sólido y obtener una solución transparente, de dicha solución se tomó 1 mL y finalmente se diluyó 50 veces con HCl 1 M para después leer en el espectrofotómetro con la variación de que el valor que se toma de la segunda derivada para la determinación es el pico de que se detecta en 267 nm.

Para calcular el contenido de ácido ascórbico en las muestras, se sustituye en la ecuación de

la curva de calibración la lectura de la segunda derivada de la muestra (x) y se multiplica por la dilución de la muestra, así se obtiene la concentración en mg/ L. Después se multiplica por la dilución hecha en la extracción y por ultimo se divide entre los gramos de muestra utilizados para que el resultado quede en mg ácido ascórbico /g de muestra.

2.4 Almacenamiento de las microcápsulas

Muestras de 10 g se ajustaron a diferentes humedades relativas colocándolas en desecadores de vidrio con diferentes sales, LiCl (0.108), MgCl₂ (0.318), Mg(NO₃)₂ (0.515) y NaCl (0.743) y se almacenaron a 35°C, Labuza (1982) y otros autores (Beristain *y col.*, 2002) recomiendan realizar estudios de almacenamiento a una temperatura de 35°C El tiempo máximo de almacenamiento fue de tres meses, dependiendo del comportamiento de las microcápsulas. El estudio se realizó por triplicado.

2.5 Rendimiento de microencapsulación

La Ec. (1) describe el cálculo del rendimiento de microencapsulación, el cual se define como la razón de ácido ascórbico encapsulado con respecto al adicionado en la solución (Zilberboim, 1986):

$$R = \frac{\text{Ac. ascórbico en microcápsulas (g/100 g sólido)}}{\text{Ac. ascórbico en solución (g/100 g sólido)}} \quad (1)$$

El cálculo de la cantidad de ácido ascórbico en las microcápsulas fue descrito en la metodología.

2.6 Morfología de las microcápsulas

Para el estudio de la topografía externa de las microcápsulas, las microcápsulas fueron montadas en un porta muestras con doble lado adhesivo y fueron recubiertas con 60% de oro y 40% de paladio. Las muestras fueron analizadas utilizando un microscopio electrónico de barrido JSM-5600LV (JFC-110 JEOL, Ltd., Akishima, Japon) a 15 kV. Las muestras fueron observadas a diferentes aumentos.

3 Resultados y discusión

3.1 Rendimiento de microencapsulación

Con una concentración inicial de ácido ascórbico en las microcápsulas de 367 mg de vitamina C/g de microcápsulas, el rendimiento de microencapsulación fue de un 78 %, un rendimiento semejante del 79 % fue obtenido por Pierucci *y col.*, (2006) microencapsulando ácido ascórbico y utilizando concentrado de proteína de chícharo como material de pared y fue mayor al obtenido por Desai y Park (2004) del 60 % utilizando como material de pared quitosano para microencapsular vitamina C, estos resultados se pueden atribuir a que se utilizaron diferentes materiales de pared los cuales pueden modificar la viscosidad de la solución a secar y por lo tanto el rendimiento del proceso, si la viscosidad es baja puede ocurrir una mezcla interna que retrasa la formación de una superficie permeable, en cambio aumentando la viscosidad se puede reducir la probabilidad de una mezcla interna y por lo tanto aumentar el rendimiento de encapsulación (Re, 1998). Con respecto al estudio que también utilizó quitosano las diferencias se pueden atribuir a que se utilizaron diferente condiciones para el secado por aspersión: aumentando la temperatura de entrada aumenta la velocidad de formación de película en la superficie de la partícula seca, lo cual da como resultado un incremento en la retención del ingrediente a encapsular, una rápida velocidad de secado puede formar una corteza mas firme y por lo tanto disminuir la migración del ingrediente hacia la superficie (Re, 1998).

3.2 Degradación de ácido ascórbico

La degradación del ácido ascórbico durante el almacenamiento a 35° C y a diferentes actividades de agua se muestra en la Fig. 1, se puede observar que hay una retención del 100% a los 50 días de almacenamiento a una actividad de agua de 0.108 y una pérdida del 6% a los 60 días, en cambio en las actividades de agua de agua de 0.318 y 0.515 se obtuvo una mayor degradación, en las microcápsulas almacenadas a una actividad de agua de 0.743 se obtuvo una retención del 10 % a los siete días de almacenamiento.

3.3 Cinéticas de degradación de ácido ascórbico

Estudios realizados anteriormente sobre las cinéticas de degradación de ácido ascórbico en diversos alimentos, coinciden en que su degradación es una cinética de primer orden. Nisha *y col.* (2004) estudiaron las cinéticas de degradación de vitamina C en amla, una fruta tropical, durante su cocción y demostraron que son reacciones de primer orden, al igual que Uddin *y col.* (2001) estudiaron las cinéticas de reacción de vitamina C en el almacenamiento de Kiwi deshidratado y obtuvieron cinéticas de degradación de primer orden, es decir la degradación de vitamina C depende de la concentración de vitamina C.

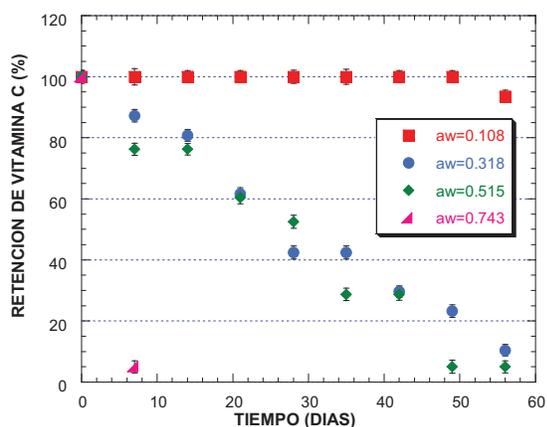


Fig. 1. Retención de ácido ascórbico de las microcápsulas almacenadas a diferentes actividades de agua a 35 °C.

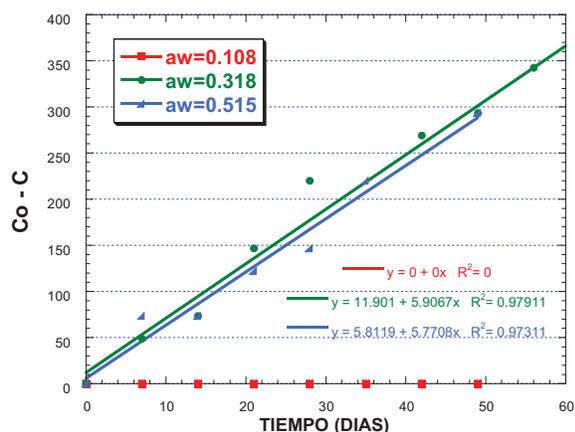


Fig. 2. Cinéticas de degradación de orden cero de microcápsulas de ácido ascórbico almacenadas a diferentes actividades de agua a 35 °C.

En el caso de las microcápsulas de ácido ascórbico almacenadas a actividades de agua de 0.108, 0.318 y 0.515 a 35°C, el orden de la reacción de las cinéticas de degradación fueron de orden cero, es decir, independientes de la concentración de ácido ascórbico, dichas cinéticas se muestran en la Fig. 2.

Para la cinética de orden cero, la Ec. (2) describe la retención de ácido ascórbico:

$$C = C_o - Kt \quad (2)$$

Donde C es la concentración de ácido ascórbico (mg/g ss) en el tiempo t , C_o es la concentración de ácido ascórbico en el tiempo cero, K es la constante de velocidad de la degradación de ácido ascórbico (mg/g ss*días) y t es el tiempo de almacenamiento (días).

Los datos de los ajustes para las cinéticas de orden cero para las microcapsulas almacenadas a las actividades de agua 0.318, 0.515 y 0.743 a 35 °C, se muestran en la Tabla 1, para la actividad de agua de 0.108 la constante de velocidad de degradación de la ácido ascórbico (K) durante 50 días de almacenamiento tuvo un valor de cero debido a que el ácido ascórbico no se degradó.

Al observar los valores de la constante de velocidad de degradación del ácido ascórbico (K) para las diferentes actividades de agua de almacenamiento, la velocidad de degradación es mas lenta a actividades de agua de 0.318 y 0.515 mientras que a una a_w de 0.743 es mayor y por lo tanto se degrada mas rápido.

3.4 Cálculo de vida media

La vida media de una reacción ($t_{1/2}$) es el tiempo necesario para que la concentración de un reactivo descienda a la mitad de su valor original. La vida media es una forma conveniente de describir la rapidez con la que una reacción ocurre, una reacción rápida tiene una vida media breve (Brown *y col.*, 2004). En el caso de la degradación de ácido ascórbico microencapsulado con quitosano, al tratarse de una reacción de orden cero la vida media depende directamente de la concentración inicial de ácido ascórbico e inversamente de la constante de velocidad de reacción, Ec. (3) (Brown *y col.*, 2004):

$$t_{1/2} = \frac{[\text{ácido ascórbico}]_0}{2K} \quad (3)$$

En la Tabla 2 se muestran los valores de vida media del ácido ascórbico almacenado a las activi-

Tabla 1. Constantes de velocidad K y coeficientes de correlación de las cinéticas de orden cero para la degradación de ácido ascórbico en microcápsulas almacenadas a diferentes actividades de agua a 35 °C.

a_w	K (mg vit C/ g ss*días)	R^2
0.318	5.90	0.97
0.515	5.77	0.97
0.743	41.92	1

Tabla 2. Vidas medias del ácido ascórbico en microcápsulas almacenadas a diferentes actividades de agua a 35°C.

a_w	Vida media (días)
0.318	31.10
0.515	31.80
0.743	4.37

dades de agua de 0.318, 0.515 y 0.743, donde se observa que al aumentar la actividad de agua disminuye el tiempo para que la concentración de ácido ascórbico descienda a la mitad de su valor original.

3.5 Micrografías de las microcápsulas

En la microencapsulación, la protección ofrecida por el material de pared y las propiedades de flujo de las microcápsulas dependen de la microestructura interior y exterior de la cápsula y en como el material de pared está organizado en las microcápsulas. Estos factores son estudiados detalladamente mediante microscopía electrónica de barrido (Rosenberg *y col.*, 1985).

La Fig. 3 muestra las micrografías tomadas a diferentes aumentos de las microcápsulas almacenadas y equilibradas a varias actividades de agua (0.108, 0.515 y 0.743) después de 60 días de almacenamiento. Las microcápsulas equilibradas a la actividad de agua de 0.108 y 0.515 exhibieron una topografía externa caracterizada por formas esféricas con una amplia variedad de tamaños, libres de superficies abolladas y un alto grado de integridad, es decir, no se observaron grietas o poros en la superficie externa, lo cual es un buen indicador de la eficiencia del proceso de microencapsulación; Pierucci *y col.*, 2006 obtuvieron micrografías de microcápsulas de vitamina C utilizando proteína de chícharo como material de pared, con características semejantes. Entre las microcápsulas almacenadas a la actividad de agua de 0.108 y 0.515 no se observaron cambios drásticos durante el almace-

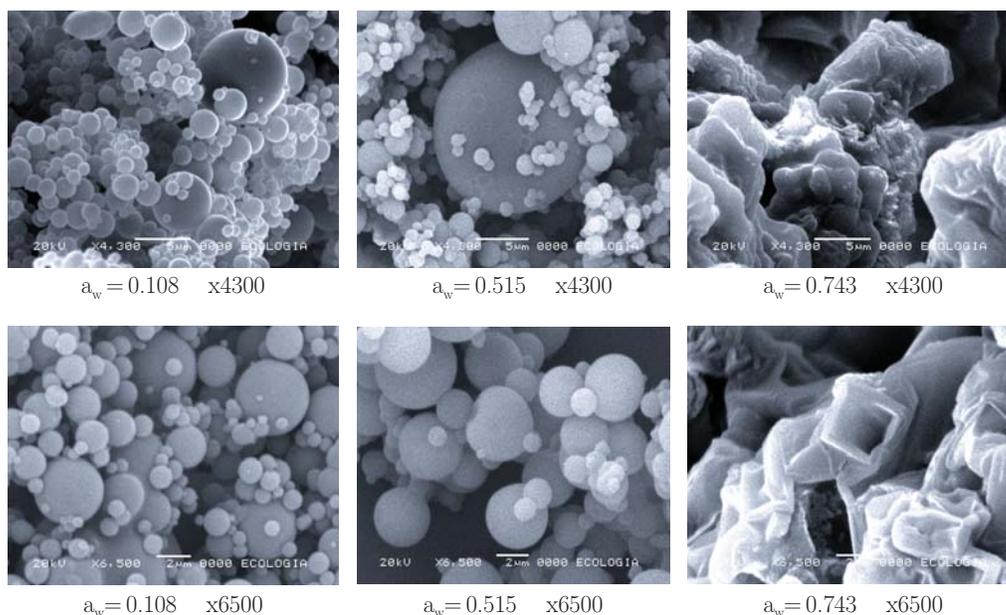


Fig. 3. Micrografías electrónicas de barrido (MEB) de microcápsulas de ácido ascórbico utilizando quitosano como material de pared, almacenadas a diferentes actividades de agua durante 60 días a 35°C.

miento, en cambio las microcápsulas almacenadas a una actividad de agua de 0.743 mostraron una severa pegajosidad, colapso y apelmazamiento, formando agregados, observándose así que la estructura y la forma esférica se destruyó completamente, resultados similares fueron encontrados por otros investigadores (Rosenberg y col., 1985). La estabilidad de las microcápsulas es afectada por la actividad de agua de almacenamiento, que a su vez provoca el colapso de éstas (Beristain y col., 2002).

Conclusiones

Con los resultados anteriores se puede concluir que la encapsulación es un método eficiente para la protección de ácido ascórbico, siendo las microcápsulas almacenadas a una a_w de 0.108 y a 35 °C las que presentaron menor degradación de ácido ascórbico y su microestructura se conservó mas durante el periodo de almacenamiento contrario a las microcápsulas almacenadas a una a_w de 0.743, las cuales presentaron la mayor degradación y su morfología se destruyó completamente, por lo tanto la actividad de agua tuvo una gran influencia en la degradación de ácido ascórbico y en la morfología de las microcápsulas.

Referencias

- Beristain, C.I., Azuara, E. y Vernon-Carter, E.J. (2002). Effect of water activity on the stability to oxidation of spray dried encapsulated orange peel oil. *Journal of Food Science* 67(1), 206-211.
- Braverman, J.B.S. (1978). *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. 2a Edición. Ed. Omega. Barcelona. España. 355 p.
- Brown, T.L., Bursten, B.E. y Burdge, J.R. (2004). *Química: La ciencia central*. 9a Edición. Ed. Pearson Educación. México. 1152 p.
- Desai, K.G.H. y Park, H.J. (2004). Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Drug Development Research* 63,181-189.
- Gharsallaoui, A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A. y Saurel R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40, 1107-1121.
- Hassan E.E., Parish, R.C. y Gallo, J.M. (1992). Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole. *Pharmaceutical Research* 9, 390-397.
- Nisha, P.R.S., Singhaland y Pandit, A.B. (2004). A study on degradation kinetics of ascorbic acid in Amla (*Phyllanthus emblica L.*) during cooking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 55 (5), 415-422.
- Ohya, Y., Takei, T., Kobayashi, H. y Ouchi, T. (1993). Release behavior of 5-fluorouracil from chitosan-gel microspheres immobilizing 5- fluorouracil derivative coated with polysaccharides and their cell specific recognition. *Journal of Microencapsulation* 10, 1-9.
- Peniche, C.W., Arguelles-Monal., Peniche, H. y Acosta, N. (2003). Chitosan: an attractive biocompatible polymer for microencapsulation. *Macromolecular Bioscience* 3, 511-520.
- Pfendt, B.L.L., Vukajinovich, V., Blagojevich, Z.N. y Radojevich, M.P. (2003). Second order derivative spectrophotometric method for determination of vitamin C content in fruits, vegetables and fruit juices. *European Food Research and Technology* 217(3), 269-272.
- Pierucci, A.P., Andrade, L.R., Baptista, E.B., Bolpato, A.M. y Rocha-Leao M.E. (2006). New microencapsulation system for ascorbic acid using pea protein concentrate as coat protector. *Journal of Microencapsulation* 23(6), 654-662.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology* 16,1195-1236.
- Rosenberg, M.I., Kopelman, J. y Talmon, Y. (1985). A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Journal of Food Science* 50, 139-144.

Trindade, M.A. y Grosso, C.R.F. (2000). The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of starch and in gum Arabica. *Journal of Microencapsulation* 17, 169-176.

Uddin, M.S., Hawlader, M.A.N y Zhou, H.J. (2001). Microencapsulation of acid ascorbic: effect of process variables on product characteristics. *Journal of Microencapsulation* 18, 199-209.

Yáñez, F.J., Salazar, J.A., Chaires, M. J., Jiménez, H.M., Márquez, R.M. Ramos, R.E. (2002). Aplicaciones tecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva* 21, 313-319.

Zilberboim, R.I.J., Kopelman, y Talmon, Y. (1986). Microencapsulation by a dehydrating liquid: retention of paprika oleoresin and aromatic esters. *Journal Food Science* 51 (5), 1301-1306.