



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Microencapsulación de una solución de vitamina D₃ comercial mediante secado por aspersión.

Trabajo de Titulación, Modalidad: Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Juan Andrés Vásconez Quintana

Tutora: PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador

Septiembre – 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Orestes Darío López Hernández, PhD.

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 21 de julio del 2023

Ing. Orestes Darío López Hernández, PhD.

C.I. 1754784864

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Juan Andrés Vásconez Quintana, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las referencias bibliográficas.



Juan Andrés Vásconez Quintana

C.I. 1850102730

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor.



Juan Andrés Vásconez Quintana

C.I. 1850102730

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del tribunal

Ing. Mario Daniel García Solís, PhD.

C.I. 1103605471

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

C.I. 1803571585

Ambato, 25 de agosto del 2023

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme en cada decisión que he tomado en mi vida.

A mis padres, John y Patricia, por todo su amor y apoyo que me han brindado para que pueda cumplir cada uno de mis sueños.

A mis hermanos, Nicole y Rafael, por ser mis compañeros de vida.

A mis abuelos, Segundo y Azucena, que me han acompañado y guiado durante cada etapa de mi vida.

Juan Andrés Vásquez Quintana

AGRADECIMIENTO

Han transcurrido cinco años desde que comencé esta travesía y en primer lugar quiero agradecer a Dios por ser la luz que ha guiado mi camino hasta este momento, bendiciendo cada una de las decisiones que he tomado, permitiéndome convertirme en la persona que soy hoy.

El mayor agradecimiento es para mi madre, quien ha sido el pilar fundamental en mi vida, ya que todo su amor, comprensión, dedicación y sacrificio me ha motivado a seguir adelante. Gracias por todo el apoyo que me has brindado a lo largo de los años, impulsándome a superar cada uno de los desafíos a los que me he enfrentado, además de enseñarme lo que es la perseverancia y demostrarme que el trabajo duro siempre brinda frutos.

Agradezco a mi padre, a mis hermanos y a mis abuelos, por estar junto a mí cada día de mi vida, apoyándome para alcanzar cada una de las metas que me he propuesto.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por abrirme las puertas de sus instalaciones para mi formación profesional.

A mi tutor, PhD. Orestes López por brindarme sus conocimientos y guiarme durante el desarrollo de este proyecto.

A los docentes Helena de la Torre, Mario García, Christian Galarza y Mario del Rosario, por su ayuda en la realización de este proyecto.

Al proyecto de Canje de deuda Ecuador-España, por brindar los equipos necesarios para la realización de este proyecto.

Finalmente, agradezco a mis amigos: Santy, Fer, Nico, Raque, Cami, Nia, Juanjo, Jean, Mishu, Vivi, Toby, Angelita, Josafat, Pepe, Erick S., Pato, Erick C., Geo, Vic, Juanito, Josu, Kevito y Abel, que me acompañaron durante desde el inicio de mi carrera universitaria hasta su culminación, brindándome su apoyo en cada uno de los buenos y malos momentos vividos. Gracias por todos los momentos compartidos, los llevare siempre en mi corazón.

Juan Andrés Vásquez Quintana (Washo)

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN EJECUTIVO	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Justificación.....	1
1.1.2. Vitamina D.....	2
1.1.2.1. Vitamina D ₃	3
1.1.2.2. Importancia de la vitamina D ₃	5
1.1.3. Déficit de vitamina D en la población mundial	6
1.1.3.1. Enfermedades relacionadas con el déficit de vitamina D.....	7
1.1.4. Aplicación de la vitamina D ₃ en la industria.....	8
1.1.4.1. Dificultades del uso de vitamina D ₃ en la industria.....	9
1.1.5. Microencapsulación	9
1.1.5.1. Secado por aspersión	10
1.1.5.2. Microencapsulación de vitamina D ₃ mediante la técnica de secado por aspersión	11
1.2. Objetivos	12
1.2.1. Objetivo general.....	12
1.2.2. Objetivos específicos	12

1.3.	Hipótesis	12
1.3.1.	Hipótesis nula.....	12
1.3.2.	Hipótesis alternativa.....	12
1.4.	VARIABLES	13
1.4.1.	VARIABLES INDEPENDIENTES	13
1.4.2.	VARIABLES DEPENDIENTES.....	13
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA		14
2.1.	MATERIALES	14
2.1.1.	REACTIVOS	14
2.1.2.	MATERIAL DE LABORATORIO.....	14
2.1.3.	EQUIPOS.....	15
2.2.	MÉTODOS	15
2.2.1.	OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA	15
2.2.2.	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	15
2.2.3.	MICROENCAPSULACIÓN DE VITAMINA D ₃ MEDIANTE LA TÉCNICA DE SECADO POR ASPERSIÓN.....	16
2.2.4.	ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO DE LA MICROENCAPSULACIÓN.....	17
2.2.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS.....	17
2.2.6.	EVALUACIÓN CUALITATIVA DE LA EFICIENCIA DEL MICROENCAPSULADO POR ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA (FT-IR)	18
2.2.7.	CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL MICROENCAPSULADO POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	18
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN		19
3.1.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	19
3.1.1.	DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA CARGA DE VITAMINA D ₃ , TEMPERATURA DE ENTRADA Y LA RELACIÓN DE MALTODEXTRINA Y GOMA ARÁBIGA SOBRE EL PROCESO DE MICROENCAPSULACIÓN DE VITAMINA D ₃	19

3.1.2. Evaluación cualitativa de la eficiencia de la microencapsulación mediante Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier (FI-TR)...	28
3.1.3. Caracterización morfológica del microencapsulado obtenido mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	35
3.2. Verificación de la hipótesis	41
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
4.1. Conclusiones.....	42
4.2. Recomendaciones	43
MATERIALES DE REFERENCIA	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las vitaminas.	3
Tabla 2. Acción de la vitamina D ₃ en distintos sistemas fisiológicos del organismo. 5	
Tabla 3. Enfermedades relacionadas con el déficit de Vitamina D.	7
Tabla 4. Variables independientes para el proceso de microencapsulación.	13
Tabla 5. Reactivos de laboratorio.	14
Tabla 6. Material de laboratorio.	14
Tabla 7. Equipos de laboratorio.	15
Tabla 8. Proporciones de las emulsiones empleadas para la microencapsulación. ...	16
Tabla 9. Rendimientos obtenidos en el proceso de microencapsulación.	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Conversión de 7-dehidrocolesterol en vitamina D ₃	4
Figura 2. Estructura química de la vitamina D ₂ y D ₃	5
Figura 3. Modelo de microencapsulación por secado por aspersión..	10
Figura 4. Microencapsulados de vitamina D ₃ comercial mediante secado por aspersión.....	20
Figura 5. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados con una carga de 20 %.	25
Figura 6. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados con una carga de 30 %.	26
Figura 7. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados.....	27
Figura 8. Resultado de la espectroscopía infrarroja de la vitamina D ₃ comercial. ...	29
Figura 9. Resultado de la espectroscopía infrarroja de la mezcla polimérica (maltodextrina : goma arábica).	30
Figura 10. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D ₃ con carga del 20%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 1:1.....	32
Figura 11. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D ₃ con carga del 30%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 1:1.....	32
Figura 12. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D ₃ con carga del 20%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 2:1.....	33
Figura 13. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D ₃ con carga del 30%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 2:1.....	33
Figura 14. Resultados de la microscopía electrónica de barrido del tratamiento con mayor rendimiento.	36
Figura 15. Resultados de la microscopía electrónica de barrido del tratamiento con mayor eficiencia.....	38
Figura 16. Gráfica de dispersión de los diámetros determinados en la microscopía electrónica de barrido.....	40

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Emulsiones de vitamina D ₃ , maltodextrina, goma arábica y agua destilada.	50
Anexo 2. Rendimiento obtenido en la microencapsulación preliminar.	50
Anexo 3. Rendimientos obtenidos en la microencapsulación de las réplicas de los distintos tratamientos realizados.	51
Anexo 4. Tabla ANOVA para la comparación de medias de los tratamientos con carga de 20 %.....	51
Anexo 5. Tabla ANOVA para la comparación de medias de los tratamientos con carga de 30 %.....	51
Anexo 6. Tabla ANOVA para la comparación de medias de todos los tratamientos realizados.....	52
Anexo 7. Medición de diámetros de las microcápsulas empleando Fiji.....	52

RESUMEN EJECUTIVO

La deficiencia de vitamina D se ha convertido en una problemática de salud pública a nivel mundial debido a las diferentes enfermedades a las que esta conlleva. Como solución a esta problemática, las industrias farmacéuticas han buscado desarrollar formulaciones empleando vitamina D₃, dado que esta es la forma más activa de la vitamina D. Sin embargo, esta vitamina presenta varios factores degradativos que alteran su estabilidad, de tal manera que se han investigado nuevas metodologías para asegurar la perdurabilidad de la misma, siendo la microencapsulación la más llamativa.

Los microencapsulados de vitamina D₃ se obtuvieron empleando una mezcla de maltodextrina y goma arábiga como agentes encapsulantes, además de variar la temperatura de entrada (150 y 170 grados centígrados) y la carga de vitamina en las micropartículas (20 y 30 por ciento). Con la evaluación de distintos tratamientos, se determinó que la temperatura y la carga óptima fueron de 150 y 30 respectivamente, obteniendo un rendimiento máximo de 66.07 por ciento. Por otro lado, la eficiencia de la microencapsulación se la analizó mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR), determinando que la relación polimérica de maltodextrina y goma arábiga (2:1) mejoraba la eficiencia de la microencapsulación. Finalmente, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) se identificó que las micropartículas obtenidas eran microcápsulas debido a su estructura superficial.

En el presente proyecto de investigación se logró microencapsular vitamina D₃ comercial mediante secado por aspersión, obteniendo un polvo seco en el que se demostró la eficiencia de la microencapsulación mediante FT-IR y su posterior caracterización mediante SEM.

Palabras clave: maltodextrina, goma arábiga, rendimiento, eficiencia, microcápsulas.

ABSTRACT

Vitamin D deficiency has become a global public health problem due to the various diseases it can lead to. As a solution to this problem, the pharmaceutical industries have sought to develop formulations using vitamin D₃, as this is the most active form of vitamin D. However, this vitamin presents several degradative factors that alter its stability, so new methodologies have been investigated to ensure its durability, the most notable being microencapsulation.

Vitamin D₃ microencapsulates were obtained by using a mixture of maltodextrin and gum arabic as encapsulating agents, as well as varying the inlet temperature (150 and 170 degrees Celsius) and the vitamin loading in the microparticles (20 and 30 percent). With the evaluation of the different treatments, it was determined that the optimum temperature and load were 150 and 30 respectively, obtaining a maximum yield of 66.07 percent. On the other hand, the efficiency of microencapsulation was analysed by infrared spectroscopy, determining that the (2:1) polymeric ratio of maltodextrin and gum arabic improved the efficiency of microencapsulation. Finally, scanning electron microscopy identified that the microparticles obtained were microcapsules due to their surface structure.

In this research project, it was possible to microencapsulate commercial vitamin D₃ by spray drying, obtaining a dry powder in which the efficiency of microencapsulation was demonstrated by FT-IR and its subsequent characterization by SEM.

Key Words: maltodextrine, gum arabic, yield, efficiency, microcapsules.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Justificación

En la actualidad, se ha evidenciado que la deficiencia de vitamina D en las personas ha ido aumentando progresivamente debido al cambiante estilo de vida de las personas, ya que estas pasan la mayor parte de su día en ambientes cerrados de tal manera que no reciben la cantidad necesaria de luz solar para que su organismo produzca la cantidad correcta de vitamina D (**Khan et al., 2020**). Así mismo, el déficit de vitamina D se encuentra altamente relacionado con el consumo inadecuado de productos de origen animal, como es el caso de pescados, huevos, productos cárnicos y lácteos, que de igual manera proporcionan vitamina D al organismo de manera exógena (**Dadkhodazade et al., 2018**). Esto ha conllevado a que en muchos casos las personas desarrollen distintos tipos de enfermedades relacionadas con el déficit de vitamina D, siendo la osteoporosis, la osteomalacia y el raquitismo las más características. Además, la deficiencia de vitamina D puede ser precursora de otros tipos de enfermedades como es el caso de la hipertensión, diabetes tipo I, varios tipos de cáncer, entre otras (**Amrein et al., 2020**).

Por esta razón, las industrias farmacéuticas han buscado desarrollar nuevos fármacos vitamínicos los cuales puedan aportar la vitamina D que el organismo necesita. Para esto, las industrias comúnmente han aplicado vitamina D₃ a sus formulaciones farmacéuticas debido a que esta es la forma activa de la vitamina D, dado que puede ser adquirida de distintas fuentes en comparación de la vitamina D₂ que únicamente puede ser obtenida a partir de cierto tipo de hongos, levaduras y algas (**Jannasari et al., 2019**). Sin embargo, la vitamina D₃ presenta varios factores degradativos, dado que es sensible al oxígeno, la luz, las altas temperaturas y un pH bajo, lo que puede llegar a afectar su estabilidad, lo que genera dificultades para la industria farmacéutica al momento de trabajar con la misma (**M. B. Santos, Geraldo de Carvalho, et al., 2021**).

Debido a estas dificultades el campo farmacéutico ha buscado nuevas alternativas que permitan mejorar la estabilidad de los componentes bioactivos que se emplean para el desarrollo de nuevos fármacos, siendo la microencapsulación una de las más llamativas (**Ramalho et al., 2017**). La microencapsulación es una técnica que consiste en envolver un compuesto activo en una capa protectora que permite proteger al mismo de los distintos factores degradativos que puedan llegar a afectar su estabilidad. Existen distintas técnicas de microencapsulación, siendo el secado por aspersion una de las más utilizadas en la actualidad debido a su alta tasa de producción y eficiencia, sus bajos costos de operación y que puede ser empleada en una gran variedad de compuestos (**Choudhury et al., 2021**).

Es así como la microencapsulación mediante la técnica de secado por aspersion de vitamina D₃ podría ser una opción viable para la solución de los factores de degradación de esta vitamina, puesto que de esta manera se podría aumentar la eficiencia, estabilidad y biodisponibilidad de la vitamina, además de que se podría mejorar la dosificación y administración de la misma, dado a que podría ser utilizada para el desarrollo fármacos que presenten mayor eficiencia.

1.1.2. Vitamina D

Las vitaminas son micronutrientes cuya función principal es participar en el desarrollo celular de los organismos, además de que juegan un rol fundamental en el metabolismo de otros nutrientes, el fortalecimiento del sistema inmunológico y el mantenimiento de distintos sistemas (**Maurya et al., 2020**). Las vitaminas esenciales para el cuerpo humano se clasifican según su solubilidad (**Tabla 1**).

Tabla 1. *Clasificación de las vitaminas.*

Solubilidad	Vitamina
Liposoluble	Vitamina A
	Vitamina D
	Vitamina E
	Vitamina K
Hidrosoluble	Vitamina C
	Vitamina B ₁
	Vitamina B ₂
	Vitamina B ₃
	Vitamina B ₅
	Vitamina B ₆
	Vitamina B ₇
	Vitamina B ₁₂
	Ácido fólico

Tabla adaptada de **McKee et al., (2014)**.

La vitamina D es considerada la vitamina más importante del grupo de vitaminas liposolubles, puesto que está altamente relacionada con la salud ósea y muscular, así como para otros procesos biológicos en el cuerpo. La vitamina D está compuesta por vitamina D₂ (ergocalciferol) y vitamina D₃ (colecalfiferol), siendo esta última su forma más activa debido a que la misma se produce de manera endógena en el organismo a través de la exposición a la luz solar (**Santos, de Carvalho, et al., 2021**).

1.1.2.1. Vitamina D₃

La vitamina D₃ (VD₃), también conocida como colecalfiferol, es una vitamina soluble en grasa que se produce naturalmente en la piel en respuesta a la exposición a la luz solar. Esto ocurre debido a que los rayos UV provenientes del sol interactúan con el compuesto 7-dehidrocolesterol presente en la epidermis generando una ruptura en uno de sus anillos aromáticos convirtiéndola en pre-vitamina D₃. Una vez obtenida la pre-

vitamina D₃, rápidamente se genera una isomerización térmica causada por los rayos UV obteniendo finalmente VD3 (**Figura 1**) (**Ramalho et al., 2017**).

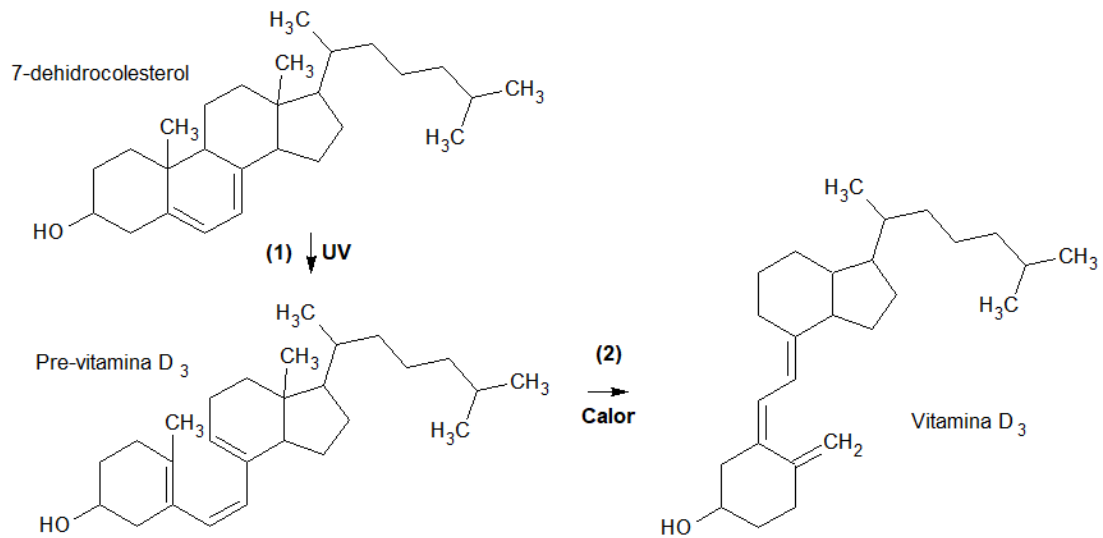


Figura 1. Conversión de 7-dehidrocolesterol en vitamina D₃.

(1) Rompimiento del anillo aromático del 7-dehidrocolesterol mediante la exposición a rayos UV para la obtención de pre-vitamina D₃. (2) Conversión de pre-vitamina D₃ en vitamina D₃ a partir de una isomerización térmica causada por el calor generado de la exposición solar. Figura adaptada de **Ramalho et al., (2017)**.

También se encuentra en alimentos de origen animal como productos cárnicos, pescado, hígado, yema de huevo y lácteos, aunque la cantidad de vitamina disponible en los mismos es sumamente pequeña (**Berino et al., 2019**). Esta forma de la vitamina D se la considera como la más activa debido a que es producida de manera endógena por el organismo, además de que puede ser adquirida de manera exógena mediante el consumo de los alimentos mencionados anteriormente, a diferencia de la vitamina D₂ que únicamente puede ser encontrada en ciertos tipos de hongos, levaduras y algas (**Holick, 2010**). En la **Figura 2** se observa la diferencia estructural entre la vitamina D₂ y la vitamina D₃.

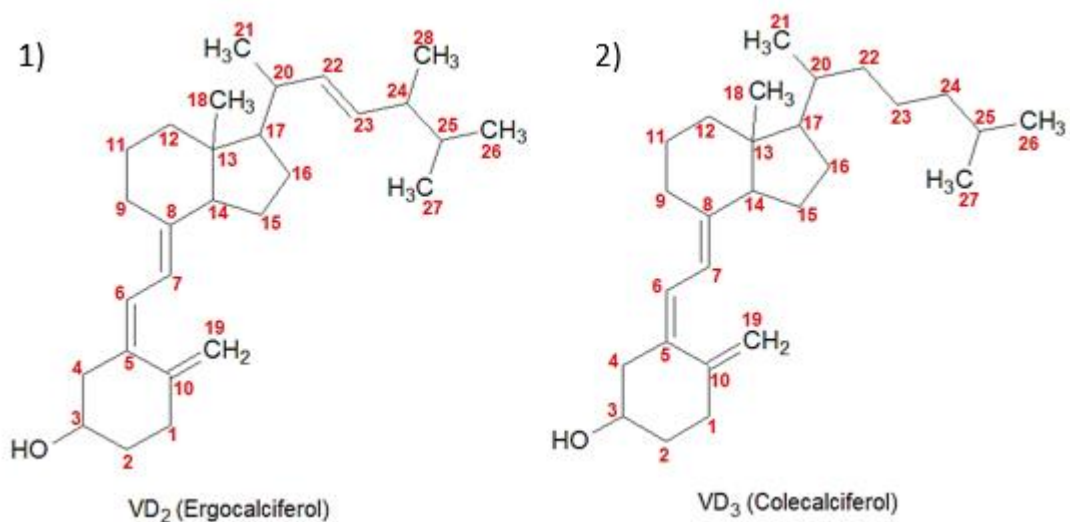


Figura 2. Estructura química de la vitamina D₂ y D₃. Figura adaptada de Sirajudeen et al., (2019).

La diferencia en la estructura química de las dos formas de la vitamina D se centra en el doble enlace presente entre los carbonos 22 y 23, y el grupo metil en el carbono 24 de la vitamina D₂ (Sirajudeen et al., 2019).

1.1.2.2. Importancia de la vitamina D₃

La vitamina D₃ juega un papel fundamental en la salud humana ya que ayuda al organismo a metabolizar nutrientes, fortalecer el sistema inmunológico y mantiene a los distintos sistemas del cuerpo humano funcionando correctamente, además de que dicha vitamina es crucial en el desarrollo celular (Berino et al., 2019). En la **Tabla 2** se indican las funciones más importantes de la vitamina D₃ en el organismo.

Tabla 2. Acción de la vitamina D₃ en distintos sistemas fisiológicos del organismo.

Función	Acción
Desarrollo celular	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuda a la diferenciación celular • Regula la proliferación celular

Función	Acción
Homeostasis de calcio	<ul style="list-style-type: none"> • Absorción de calcio en los intestinos • Ayuda al crecimiento óseo • Mantiene la densidad ósea
Fortalecimiento del sistema inmunológico	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la inmunidad innata
Actividad pancreática	<ul style="list-style-type: none"> • Estimula la secreción de insulina
Control cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> • Controla la función cardíaca y la presión arterial
Desarrollo muscular	<ul style="list-style-type: none"> • Promueve el desarrollo del músculo esquelético

Se presenta la función que cumple la vitamina D₃ en los distintos sistemas fisiológicos del organismo, además de la acción que realiza en cada uno de ellos. Adaptado de **Santarosa et al., (2015)**.

Dado que la vitamina D, participa en distintos sistemas fisiológicos del organismo, la mantención de niveles adecuados de la misma es fundamental, puesto que la deficiencia de la misma puede conllevar al desarrollo de distintas enfermedades, mientras que un exceso de vitamina D puede generar un efecto tóxico en el organismo (**Liu et al., 2020**).

1.1.3. Déficit de vitamina D en la población mundial

Hoy en día, el déficit de vitamina D ha aumentado en la población a tal grado de ya ser considerado como un problema de salud pública a nivel mundial. Esto se debe principalmente al cambiante estilo de vida de las personas, puesto que en la actualidad la exposición a la luz solar es limitada por la permanencia de la mayor parte de su día a día en zonas cerradas como instituciones educativas, oficinas u hogares (**Khan et al.,**

2020). Esto genera que el cuerpo humano no produzca correctamente la vitamina D en el organismo, puesto que la principal fuente de dicha vitamina es la luz solar. Esto también se encuentra altamente relacionado con la situación climática, puesto que en muchas zonas debido a su ubicación geográfica la exposición solar es baja lo que dificulta la producción de vitamina D en el organismo (**Ismailova & White, 2022**). Así mismo, la mala alimentación ha generado un aumento en el déficit de vitamina D en la población mundial. Esto puede deberse principalmente a que no se consume adecuadamente los alimentos ricos en vitamina D (alimentos de origen animal), siendo las personas veganas y las personas de bajos recursos las más afectadas (**Jiang et al., 2019**).

Esta problemática puede presentar graves problemas para la salud, dado que la deficiencia de vitamina D puede generar una gran cantidad de enfermedades para el ser humano como enfermedades óseas, debilidad muscular, enfermedades cardiovasculares y enfermedades autoinmunitarias, además de que se ha relacionado el déficit de vitamina D con el riesgo de desarrollo de distintos tipos de cáncer (**Liu et al., 2020**).

1.1.3.1. Enfermedades relacionadas con el déficit de vitamina D

La vitamina D ayuda al correcto funcionamiento de distintos sistemas fisiológicos, por lo que el déficit de la misma podría generar el desarrollo de distintas enfermedades relacionadas a cada uno de ellos (**Tabla 3**).

Tabla 3. *Enfermedades relacionadas con el déficit de Vitamina D.*

Sistema Fisiológico	Enfermedades
Celular	Cáncer de próstata, seno y colón
Homeostasis de calcio	Raquitismo, osteomalacia y osteoporosis

Sistema Fisiológico	Enfermedades
Sistema inmune innato y adaptativo	Diabetes tipo 1
Páncreas	Diabetes tipo 2
Cardiovascular	Hipertensión
Muscular	Miopatía muscular

Se presentan las distintas enfermedades relacionadas con el déficit de vitamina D, cada una de ellas con su respectivo sistema fisiológico. Adaptado de **Santarosa et al., (2015)**.

Cada una de estas enfermedades están altamente relacionadas con la alteración de la disponibilidad de la vitamina en el organismo, la alteración en la conversión de pre-vitamina D₃ en vitamina D₃ y la alteración en la conversión de vitamina D₃ en calcitriol **Santarosa et al., (2015)**.

1.1.4. Aplicación de la vitamina D₃ en la industria

Debido al alto déficit de vitamina D en la población, las distintas industrias han buscado la manera de aplicar esta vitamina en sus productos para suplementar la dieta de las personas mejorando los niveles de vitamina D en el organismo. Para esto, las industrias suelen trabajar mayormente con la vitamina D₃ debido a que hay varias fuentes de obtención de la misma, además de que es más estable que la vitamina D₂ **(Khan et al., 2020)**.

En la industria alimentaria, la vitamina D₃ se utiliza frecuentemente para la fortificación de alimentos, mejorando el contenido nutricional de los productos, brindando beneficios a las personas que presentan un déficit de dicha vitamina **(Wilson et al., 2017)**. Por otro lado, la vitamina D₃ se utiliza constantemente en la industria farmacéutica para la producción de formulaciones sólidas y semisólidas como suplemento, con la finalidad de tratar enfermedades relacionadas con la falta de vitamina D en el organismo, siendo la osteoporosis y la osteomalacia las más importantes. Finalmente, la vitamina D₃ se aplica en la industria cosmética para la

elaboración de cremas y otros productos para el cuidado de la piel y cabello, dado a que mejora la capacidad de absorción de calcio (**Ramalho et al., 2017**).

1.1.4.1. Dificultades del uso de vitamina D₃ en la industria

Aunque las vitaminas han sido implementadas comúnmente en la industria, la vitamina D₃ presenta varias dificultades para su uso en la elaboración de los distintos productos que ofrecen las distintas industrias. Esto se debe principalmente a que la vitamina D₃ presenta varios factores degradativos, ya que la misma es sensible a la luz, al oxígeno, a las altas temperaturas, entre otras que pueden llegar a afectar su estabilidad (**Eslami et al., 2018**). De igual manera, la vitamina D₃ requiere de un gran control en su administración, ya que grandes cantidades de este nutriente pueden ser tóxicos para el organismo, por lo que se debe asegurar la dosificación correcta al momento de suplementar los productos con dicha vitamina (**Amrein et al., 2020**).

1.1.5. Microencapsulación

A microencapsulación es una técnica la cual se implementa en la industria para proteger un componente bioactivo, ya sea líquido, sólido o gas en micropartículas (1 – 1000 µm) a partir de un proceso de encapsulación (**Arenas-Jal et al., 2020**). Esta técnica se centra en el recubrimiento del componente bioactivo con agentes encapsulantes que actúan como material de pared. Las micropartículas obtenidas son denominadas microcápsulas o microesferas, dependiendo de la solubilidad del componente bioactivo, siendo microcápsulas para componentes liposolubles y microesferas para componentes hidrosolubles (**Lengyel et al., 2019**). La finalidad de esta técnica es proteger a los componentes bioactivos que se emplean en la industria de los distintos factores degradativos a los que puedan verse afectados en los procesos de producción y almacenamiento como lo es la temperatura, la presencia de oxígeno, la luz, el pH, la humedad, entre otros (**Calderón-Oliver & Ponce-Alquicira, 2022**).

1.1.5.1. Secado por aspersión

El secado por aspersión es un método de microencapsulación el cual permite obtener micropartículas de un componente bioactivo a partir de un proceso de atomización donde se obtiene un polvo seco a partir de una solución, suspensión o emulsión del compuesto de interés (Choudhury et al., 2021). El mecanismo de este método (Figura 3) se basa en la conversión de un líquido a un polvo seco a partir de la aplicación de aire caliente que puede oscilar entre los 150 y 220 °C para la evaporación del solvente. A partir de un proceso de atomización, donde se elimina la humedad de las gotas de la solución que ingresa al equipo, lo que permite que los agentes encapsulantes se adhieran al componente bioactivo, formando una capa protectora (Santos et al., 2018). Finalmente, se reduce significativamente la temperatura del proceso a temperaturas entre 80 y 50 °C para la obtención del polvo final.

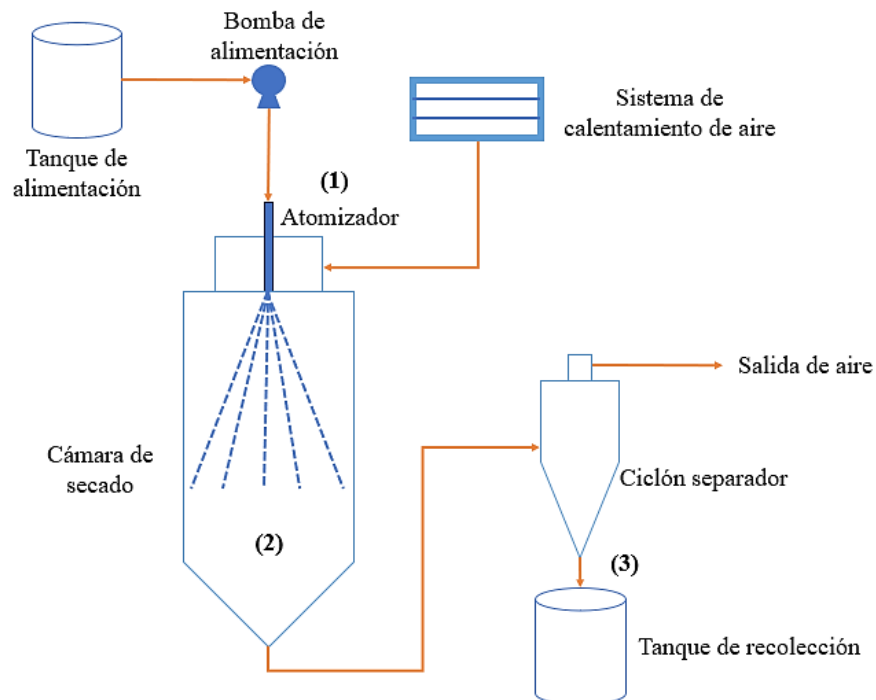


Figura 3. Modelo de microencapsulación por secado por aspersión. Figura adaptada de Santos et al., (2018).

En la **Figura 3** se presenta el proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión, el cual se centra en tres procesos clave. Inicialmente, la muestra líquida entra al atomizador, de tal manera que se generan gotículas de la muestra que ingresan a la cámara de secado. Posteriormente, en la cámara de secado las micropartículas son secadas por un flujo de aire caliente, adquiriendo la matriz polimérica que recubre al compuesto bioactivo de interés. Finalmente, las micropartículas se dirigen al ciclón separador, donde las partículas descienden hasta el tanque de recolección (**Choudhury et al., 2021**).

1.1.5.2. Microencapsulación de vitamina D₃ mediante la técnica de secado por aspersión

A lo largo de los años, se han buscado nuevas alternativas para mejorar la estabilidad de la vitamina D₃ para el desarrollo de nuevos productos, donde la microencapsulación por secado por aspersión ha sido la opción más viable debido a la alta tasa de eficiencia que presenta. Con el paso de los años se han analizado distintos polímeros encapsulantes (carbohidratos, gomas, proteínas, lípidos, entre otros) los cuales puedan ser aplicados en la microencapsulación de la vitamina D₃. **Dadkhodazade et al., (2018)** realizó un estudio en el cual microencapsulaba vitamina D₃ utilizando células de levadura como agentes encapsulantes, obteniendo resultados prometedores debido a que las células de levadura lograron encapsular correctamente la vitamina. A partir de este tipo de análisis, se podrá identificar que polímero es el indicado para mantener la estabilidad de la vitamina D₃, lo que podría mejorar a gran escala los productos elaborados con la misma en la industria.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Microencapsular una solución de vitamina D₃ comercial mediante secado por aspersión.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar la influencia de la carga de vitamina D₃, temperatura de entrada y la relación de maltodextrina y goma arábica sobre el proceso de microencapsulación de vitamina D₃.
- Evaluar cualitativamente la eficiencia de la microencapsulación mediante espectroscopia infrarroja.
- Caracterizar morfológicamente el microencapsulado obtenido mediante microscopía electrónica de barrido.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis nula

La variación de las condiciones de operación no mejora el rendimiento de la microencapsulación de vitamina D₃ comercial.

1.3.2. Hipótesis alternativa

La variación de las condiciones de operación mejora el rendimiento de la microencapsulación de vitamina D₃ comercial.

1.4. Variables

1.4.1. Variables independientes

Las variables independientes analizadas en el presente proyecto se presentan en la **Tabla 4.**

Tabla 4. *Variables independientes para el proceso de microencapsulación.*

Variables	Niveles
Temperatura de entrada	150 °C
	170 °C
Carga de la microcápsula (Proporción Vitamina D ₃ – Mezcla polimérica)	20 % (20:80 p/p)
	30 % (30:70 p/p)
Relación de la mezcla de maltodextrina y goma arábica	1:1 p/p
	2:1 p/p

1.4.2. Variables dependientes

Rendimiento de la microencapsulación de vitamina D₃ comercial.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

El presente proyecto de investigación se lo realizó empleando los reactivos, materiales y equipos de laboratorio descritos en las **Tablas 5 a 7**.

2.1.1. Reactivos

Tabla 5. *Reactivos de laboratorio.*

Reactivos	Cantidad
Vitamina D ₃	1 L
Maltodextrina	150 g
Goma arábica	100 g
Agua destilada	1 L

2.1.2. Material de laboratorio

Tabla 6. *Material de laboratorio.*

Material	Cantidad
Vaso de precipitación (250 mL)	2
Espátula	1
Probeta (50 mL)	1
Varilla de agitación	1
Papel aluminio (Diamond)	1 paquete
Bolsas Ziploc de aluminio	1 paquete
Frascos ámbar (10 ml)	24
Papel absorbente	1 paquete

2.1.3. Equipos

Tabla 7. *Equipos de laboratorio.*

Equipos	Cantidad
Homogeneizador de alta velocidad (MTOPOS-SR30)	1
Mini Spray Dryer (BUCHI-290)	1
Balanza analítica (OHAUS Adventurer- Pro)	1
Espectroscopio infrarrojo (PerkinElmer Spectrum Two)	1
Microscopio electrónico de barrido (JOEL)	1
Computador Hp con sistema operativo Windows 10	1

2.2. Métodos

2.2.1. Obtención de la materia prima

La vitamina D₃ se obtuvo del proveedor “LAQUIFARVA” ubicado en la ciudad de Ambato. Se adquirió Vitamina D₃ líquida de grado farmacéutico.

2.2.2. Preparación de las muestras

Se prepararon emulsiones compuestas por vitamina D₃, mezcla polimérica de maltodextrina y goma arábiga (1:1 y 2:1 p/p) y agua destilada, donde se variaron las proporciones de cada uno de dichos componentes según la carga de la microcápsula (20:80 y 30:70 p/p), tal y como se indica en la **Tabla 8**.

Tabla 8. *Proporciones de las emulsiones empleadas para la microencapsulación.*

Muestra	Vitamina D₃ (%)	Maltodextrina (%)	Goma arábica (%)	Agua destilada (mL)
1	2	4	4	27
2	2	5,2	2,8	27
3	3	3,5	3,5	23
4	3	4,55	2,45	23

Las emulsiones se las realizaron por triplicado, dado que cada una de ellas serían sometidas a distintas temperaturas de entrada en el proceso de microencapsulación (150 y 170 °C).

2.2.3. Microencapsulación de vitamina D₃ mediante la técnica de secado por aspersión

El proceso de microencapsulación de vitamina D₃ comercial se lo llevó a cabo en los laboratorios de la UODIDE de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para la microencapsulación se utilizó el secador por aspersión Mini Spray Dryer BUCHI-290 donde se empleó un flujo de aire de 600 L/h. Se alimentó la cámara de secado con las emulsiones preparadas en el punto 2.2.2. con un caudal de aspirador del 100%. Durante el proceso de secado se trabajó con una variación de la temperatura de entrada de 150 y 170 °C, y la variación de la carga de las microcápsulas de 20 y 30 %. Una vez llegada a la temperatura deseada, se abrió el flujo de aire y agua de tal manera que se logró controlar la temperatura de salida (90 °C). Finalmente, cuando el equipo llegó a los 70 °C se desmontó el ciclón estándar y el vaso de recolección del producto para obtener el microencapsulado. El polvo final fue recolectado y envasado en fundas ziploc de aluminio y almacenados en un lugar seco a temperatura ambiente para su posterior uso en los análisis de eficiencia y caracterización.

2.2.4. Análisis del rendimiento de la microencapsulación

Una vez obtenidos los microencapsulados, se pesó el polvo seco para calcular el rendimiento de la microencapsulación. Este valor se lo calculó a partir de la siguiente ecuación establecida por **Pulido & Beristain, (2010)**:

$$\%R = \frac{\text{Contenido de sólidos obtenidos (g)}}{\text{Contenido de sólidos alimentados (g)}} \times 100$$

2.2.5. Análisis estadístico de datos

Se evaluó el aumento del rendimiento de la microencapsulación de la vitamina D₃ comercial obtenida mediante secado por aspersión, empleando la mezcla de maltodextrina y goma arábiga como polímeros encapsulantes en proporciones 1:1 y 2:1 respectivamente (**Tabla 8**), además de la variación de la carga de la microcápsula de 20 y 30 %, y la variación de la temperatura de entrada en el proceso de secado de 150 y 170 °C. Se realizó un análisis de comparación de medias de los valores del rendimiento de la microencapsulación obtenidos en las tres réplicas realizadas para cada tratamiento, con un nivel de significancia del 95 %.

Para este análisis se utilizó la prueba gratuita de 30 días del software estadístico Statgraphics Centurion (Versión XVI.I), con el cual se aplicó un análisis ANOVA para determinar si existía diferencia estadísticamente significativa entre los valores del rendimiento con un valor $p < 0.05$. Además, se obtuvieron distintas gráficas de Cajas y Bigotes para comparar los resultados de todos los tratamientos realizados. Finalmente, los resultados fueron analizados considerando las hipótesis mencionadas en el punto 1.3.

2.2.6. Evaluación cualitativa de la eficiencia del microencapsulado por espectroscopía infrarroja (FT-IR)

La eficiencia de la microencapsulación fue analizada utilizando el Espectroscopio Infrarrojo (FT-IR) ubicado en el laboratorio de Canje de Deuda – España de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Se evaluó la eficiencia del microencapsulado de manera cualitativa aplicando espectroscopía infrarroja por la transformada de Fourier. En este caso se utilizó el programa Spectra Analysis a un rango de 500 a 4000 cm^{-1} para analizar las muestras que hayan presentado el mayor rendimiento. De igual manera se analizó una pequeña muestra de la vitamina D₃ líquida y la mezcla polimérica de maltodextrina y goma arábica, para poder comparar los picos más relevantes en cada muestra, comprobando así la eficiencia de la microencapsulación (**Teng et al., 2013**).

2.2.7. Caracterización morfológica del microencapsulado por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La caracterización del microencapsulado se lo realizó los laboratorios de Ingeniería Mecánica del Colegio de Ciencias e Ingenierías de la Universidad San Francisco de Quito, donde se encuentra el microscopio electrónico de barrido (JOEL).

Se fijaron pequeñas cantidades de la muestra que presentó mayor rendimiento y mayor eficiencia en una placa de aluminio circular con cinta conductora de carbono (**Teng et al., 2013**). Una vez fijadas las muestras, se las llevó al microscopio electrónico de barrido para su caracterización, donde se aplicó una aceleración de 20 kV y con alto vacío debido a que se trataba de una muestra seca. Las muestras fueron observadas a una resolución de 500X y 2000X, de tal manera que logró observar la morfología y la calidad de la superficie de las microcápsulas (**Kang et al., 2019**).

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y Discusión de los resultados

3.1.1. Determinación de la influencia de la carga de Vitamina D₃, temperatura de entrada y la relación de maltodextrina y goma arábiga sobre el proceso de microencapsulación de Vitamina D₃

En la actualidad las industrias farmacéuticas han implementado procesos de microencapsulación como un método de obtención de componentes estables a partir de un material de núcleo (componente bioactivo) y un material de pared (agente encapsulante). Principalmente, esta técnica ha llamado la atención de la industria farmacéutica para aumentar la estabilidad de las vitaminas liposolubles que por sus distintos factores degradativos el trabajo con las mismas es sumamente complicado (Ribeiro et al., 2020).

Para esta investigación se aplicó la microencapsulación por secado por aspersión, obteniendo un polvo seco color blanquecino (**Figura 4**), formado por partículas denominadas microcápsulas debido al carácter hidrofóbico del componente bioactivo (VD₃). Este producto microencapsulado se lo obtuve partir de la variación de distintas condiciones de operación en el proceso de microencapsulación como lo es la carga de vitamina D₃ en la microcápsula, la temperatura de entrada y la relación de maltodextrina y goma arábiga como agentes encapsulantes.

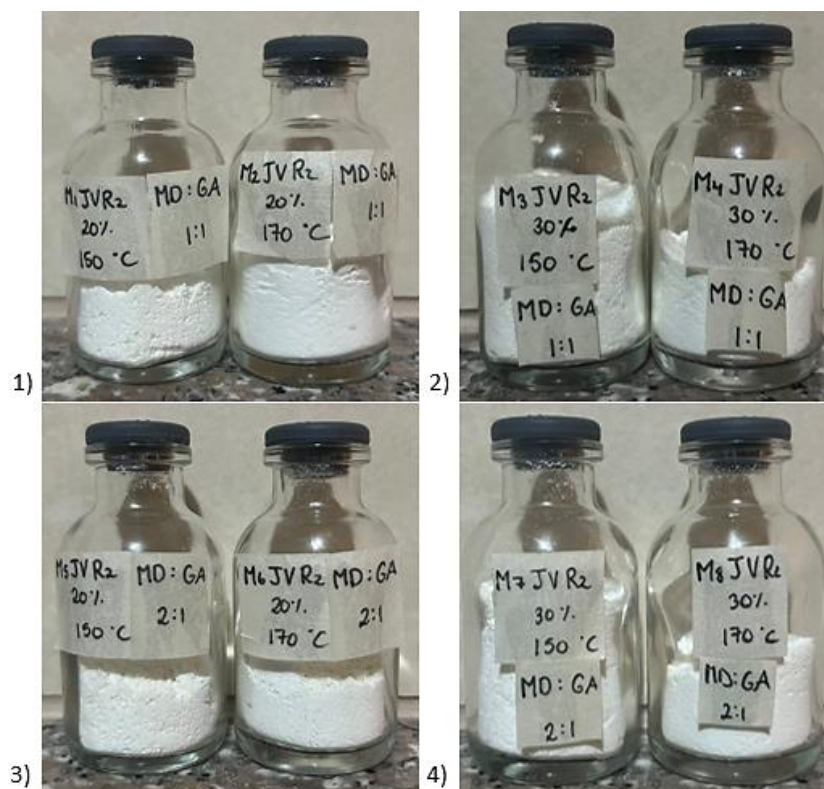


Figura 4. *Microencapsulados de vitamina D₃ comercial mediante secado por aspersion.*

Para la determinación del rendimiento de la microencapsulación, se realizó una evaluación preliminar del proceso de microencapsulación en el cual se utilizaron las muestras una vez homogeneizadas, de tal manera que la presencia de espuma (**Anexo 1.1**) en las mismas ocasionó una disminución en el volumen final que se llevaría al secador por aspersion, generando a su vez una disminución en el rendimiento de la microencapsulación (**Anexo 2**).

Una vez determinada la influencia de la espuma en el rendimiento de la microencapsulación, las muestras permanecieron en reposo por 24 horas, lo que permitió estabilizar la emulsion, obteniendo el volumen final que se microencapsuló (**Anexo 1.2**). Para este análisis se realizaron 3 réplicas para cada tratamiento, obteniendo un total de 24 microencapsulados de los cuales se obtuvo el valor de su rendimiento (**Anexo 3**) a partir de la ecuación que se muestra en el apartado 2.2.4. En

la **Tabla 9** se puede observar la media del porcentaje de rendimiento obtenido en cada uno de los tratamientos realizados.

Tabla 9. Rendimientos obtenidos en el proceso de microencapsulación.

Tratamiento	Carga de VD3 (%)	Temperatura de entrada (°C)	Relación polimérica	Rendimiento (%)
1	20	150	1:1	43,84 ± 1,18
2	20	170	1:1	40,90 ± 1,11
3	20	150	2:1	44,20 ± 1,41
4	20	170	2:1	41,44 ± 1,41
5	30	150	1:1	66,07 ± 1,74
6	30	170	1:1	39,43 ± 0,78
7	30	150	2:1	64,09 ± 1,42
8	30	170	2:1	40,06 ± 1,62

Se presenta el promedio del rendimiento (%) obtenido de cada uno de los tratamientos realizados, variando la carga de vitamina D₃ en la microcápsula (20 y 30 %), la temperatura de entrada (150 y 170 °C) y la relación polimérica (1:1 y 2:1).

Como resultado de la microencapsulación de vitamina D₃ comercial a partir de la variación de la carga de VD3, temperatura de entrada y la relación polimérica de maltodextrina y goma arábica, se obtuvieron rendimientos que fluctuaron entre 39.43 ± 0.78 % y 66.07 ± 1.74 %. Los valores obtenidos se asemejan a lo reportado por **Mahdi Jafari et al., (2019)**, donde obtiene un rendimiento entre 33.9 y 96.4 %, arrojando valores cercanos al 100 % debido a que se empleó otro modelo de secador por aspersión con una capacidad superior al empleado en esta investigación.

Los valores máximos obtenidos demuestran que se alcanzó un alto grado de rendimiento de microencapsulación dado que el secador por aspersión (BUCHI B-290) empleado en la investigación, al ser un equipo de escala de laboratorio ofrece un valor

máximo de rendimiento del 70 % (**BÜCHI Labortechnik AG, 2020**). Valores superiores al 70 % no pueden ser obtenidos en este caso, debido a las pérdidas existentes por la adherencia de las partículas al equipo y por las pérdidas existentes en la recolección del producto final.

Cada una de las variaciones realizadas en las condiciones de operación en el proceso de microencapsulación de vitamina D₃ influyeron en el rendimiento final obtenido. En primer lugar, la carga de vitamina en la microcápsula es un factor fundamental en dentro de la microencapsulación. Esto se debe principalmente a la característica hidrofóbica de la vitamina, puesto que a mayor cantidad de vitamina en la emulsión se requerirá una menor concentración de agua, reduciendo así la humedad presente (**Choudhury et al., 2021**).

En este caso se analizaron dos tipos de cargas (20 y 30 %), de tal manera que se pudiera comparar si la cantidad de vitamina empleada en la emulsión afecta el rendimiento. Los tratamientos en los cuales se empleó una carga del 20 % presentaron valores bajos en el rendimiento en comparación con los tratamientos en los que se empleó una carga del 30 % (**Tabla 9**). Esto puede deberse a que, a mayor cantidad de vitamina presente en la emulsión, la probabilidad de que se degrade debido a las altas temperaturas es menor. Esto coincide con lo establecido por **Frascareli et al., (2012)**

Otro aspecto que se debe considerar durante el proceso de microencapsulación es la temperatura de entrada del secador por aspersión, puesto que esta está altamente relacionada con el flujo de aire de atomización. La temperatura de entrada debe ser considerada según el componente bioactivo con el que se trabajará, dado que muchos compuestos pueden ser sensibles a altas temperaturas lo que ocasionará que se degrade rápidamente (**Nguyen et al., 2021**).

Las temperaturas de entrada empleadas en la microencapsulación de la vitamina D₃ fueron de 150 y 170 °C, permitiendo obtener como resultado que la temperatura más

baja, en este caso 150 °C, presentará valores mayores en el rendimiento de la microencapsulación (**Tabla 9**). Esto puede deberse ya que la vitamina D₃ al ser un compuesto oleoso, al momento de someter la emulsión a altas temperaturas (170 °C) el solvente empleado (agua destilada) se evaporaría más rápido generando que las micropartículas no se sequen en su totalidad. Esto podría generar que las microcápsulas al no ser secadas correctamente se adhieran a las paredes de la cámara de secado, reduciendo así la cantidad de polvo obtenido. En un estudio realizado sobre la microencapsulación de aceite de nuez se aplicaron temperaturas de entrada de 140 y 180 °C, donde se determinó que a mayores temperaturas la evaporización del solvente era mucho más rápido, generando que la matriz polimérica de las partículas presente porosidades (**Shamaei et al., 2017**). Esto genera que el componente oleoso filtre la matriz, aumentando su adhesión al equipo.

Así mismo, la selección de los polímeros encapsulantes es un aspecto importante por considerar a la hora de realizar la microencapsulación de un componente bioactivo. En este caso se aplicó la mezcla de dos polisacáridos como agentes encapsulantes (maltodextrina y goma arábica). **Shishir et al., (2018)** menciona que, la maltodextrina es altamente empleada en la microencapsulación por secado por aspersión como polímero encapsulante debido a su capacidad de recubrimiento que disminuye la permeabilidad de la matriz, protegiendo así al componente bioactivo (VD3) de pérdidas oxidativas y de la degradación térmica durante el proceso de secado.

Por otro lado, la goma arábica es un polisacárido empleado como polímero encapsulante por su alta solubilidad y sus buenas propiedades emulsificantes (**Yildiz et al., 2018**). Por estas razones, la mezcla de estos polímeros podría ofrecer grandes beneficios para la microencapsulación de vitamina D₃, dado que protegerán a la misma de los distintos factores degradativos a los que se expone (luz, temperatura y oxígeno).

En los resultados obtenidos del rendimiento de la microencapsulación (**Tabla 9**), se puede observar que, al comparar los tratamientos realizados, la variación de la proporción de los agentes encapsulantes (1:1 y 2:1) no generan una variación

significativa en el rendimiento. Esto puede deberse a que la mezcla de maltodextrina y goma arábica forma una matriz polimérica más estable para todos los tratamientos, puesto que la maltodextrina llega a cubrir las porosidades generadas por la goma arábica, generando una superficie de mayor calidad. En la actualidad, no existen estudios en los que se haya aplicado la mezcla de maltodextrina y goma arábica para la microencapsulación de vitamina D₃; sin embargo, esta mezcla polimérica ha sido empleada para otros estudios como la microencapsulación de aceite de semilla de gurú (**Karrar et al., 2021**), la microencapsulación de aceite esencial de romero (**Fernandes et al., 2014**), entre otros, demostrando que la mezcla de estos polímeros presenta una alta eficiencia de microencapsulación.

Una vez determinada la influencia de la variación de las condiciones de operación de manera individual, se realizó un análisis estadístico de comparación de medias para poder determinar la influencia de la combinación de estos factores sobre el proceso de microencapsulación de vitamina D₃ comercial. Se realizaron distintas gráficas de cajas y bigotes (**Figuras 5 a 7**) utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion (Versión XVI.I), donde se observan los valores máximos, mínimos y el promedio de cada uno de los tratamientos, además de que se aplicó un análisis ANOVA con un nivel de significancia del 95 % para determinar si es que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los rendimientos de los distintos tratamientos realizados.

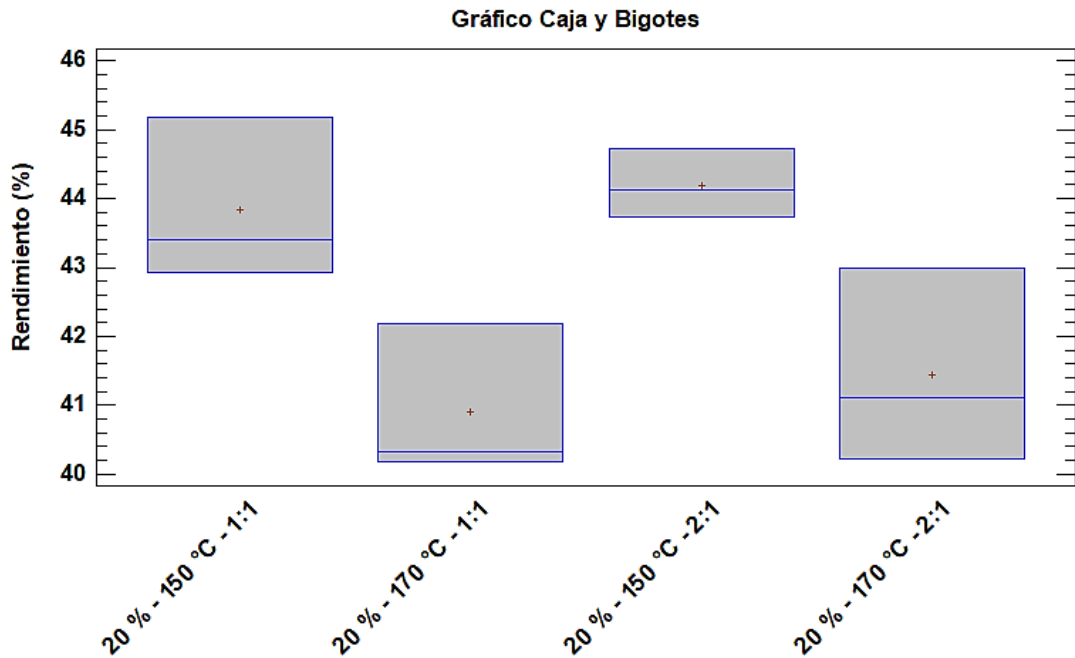


Figura 5. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados con una carga de 20 %.

Gráfica de cajas y bigotes donde se comparan los valores obtenidos en los tratamientos donde se aplicó una carga de vitamina D₃ del 20 %, con sus respectivas variaciones en temperaturas de entrada y relación de la mezcla polimérica. Se observa que los tratamientos que presentan una temperatura de entrada de 150 °C generaron un mayor rendimiento en comparación a la temperatura de 170 °C.

En la **Figura 5** se puede observar la comparación del rendimiento obtenido entre los distintos tratamientos donde se aplica la carga de vitamina D₃ del 20 %. En este caso se puede observar como la temperatura es el factor clave para la variación del porcentaje final de rendimiento obtenido, siendo la temperatura más baja (150 °C) la que presento mejores resultados. En el caso de la relación polimérica, en los tratamientos donde se mantuvo constante la carga y la temperatura de entrada, se puede observar que existe una similitud en los valores finales, de tal manera que se comprueba que la relación de la mezcla polimérica no afecta al rendimiento de la microencapsulación. Así mismo, a partir del análisis ANOVA (**Anexo 4**) se concluyó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos puesto que el valor p obtenido es menor al establecido en la investigación ($p < 0.05$).

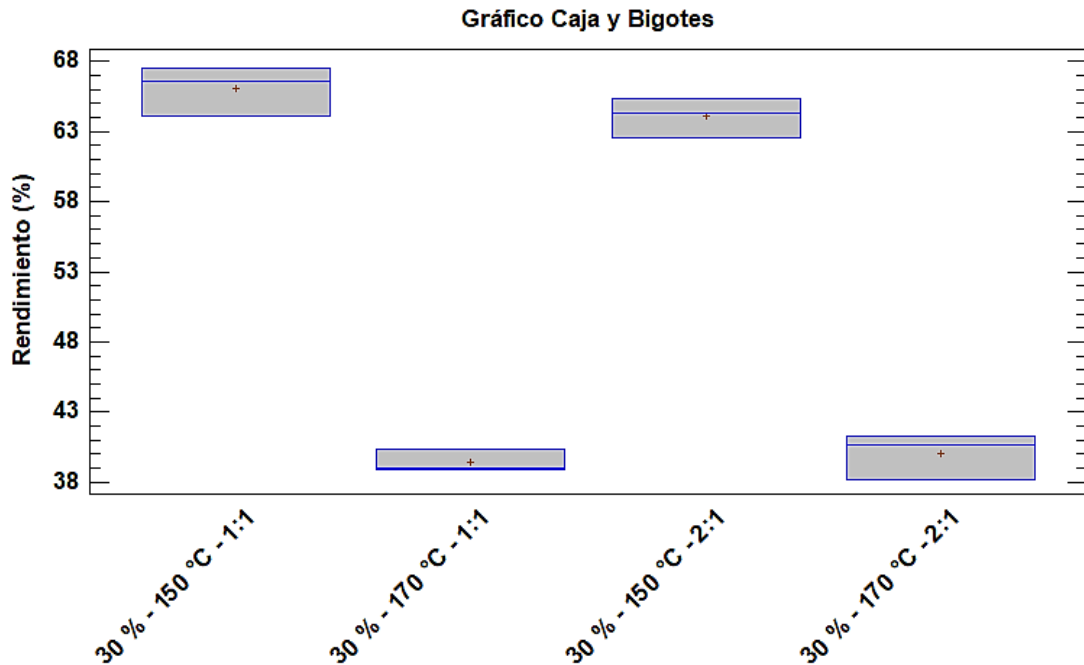


Figura 6. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados con una carga de 30 %.

Gráfica de cajas y bigotes donde se comparan los valores obtenidos en los tratamientos donde se aplicó una carga de vitamina D₃ del 30 %, con sus respectivas variaciones en temperaturas de entrada y relación de la mezcla polimérica. Se observa que los tratamientos que presentan una temperatura de entrada de 150 °C generaron un mayor rendimiento en comparación a la temperatura de 170 °C.

En el caso de la **Figura 6**, se observa que en la gráfica de cajas y bigotes existe una clara diferencia de los resultados obtenidos, puesto que los tratamientos donde se aplicó una temperatura de 150 °C presentaron rendimientos entre 60 y 70 %, a diferencia de los tratamientos donde se aplicó una temperatura de 170 °C donde los porcentajes del rendimiento no superan el 45 %. Así mismo, en el análisis ANOVA (**Anexo 5**) se determinó que el valor p obtenido con los rendimientos de los tratamientos donde se aplicó una carga del 30 % es menor al valor p establecido ($p < 0.05$), concluyendo que entre los tratamientos existe una diferencia estadísticamente significativa.

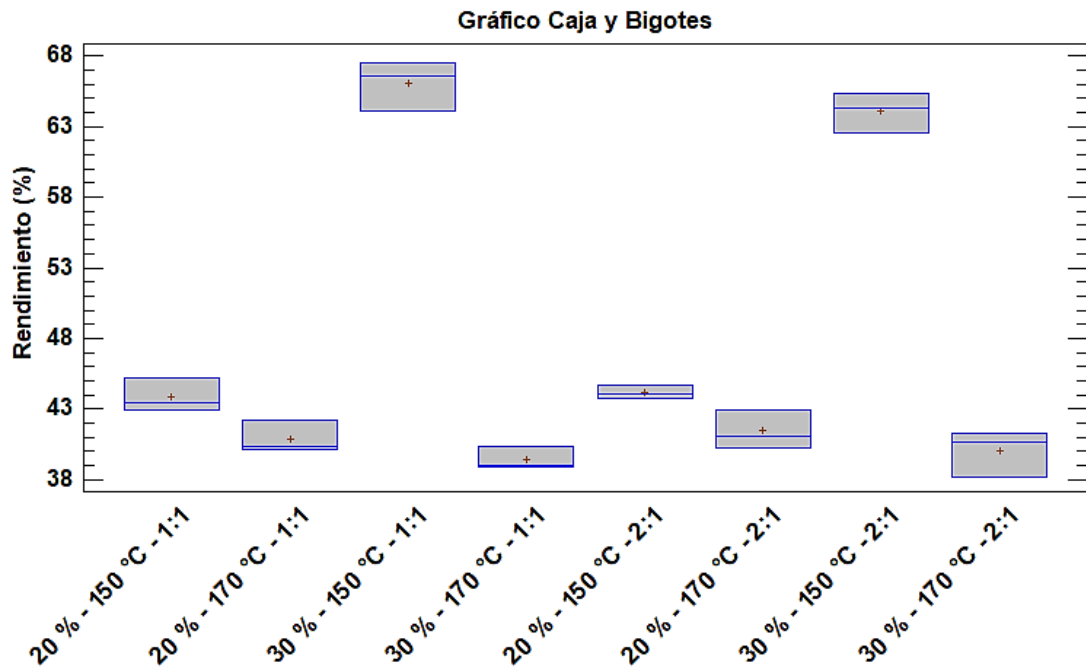


Figura 7. Gráfica de cajas y bigotes del rendimiento obtenido en los tratamientos realizados.

Gráfica de cajas y bigotes donde se comparan los valores obtenidos en todos los tratamientos realizados. Se observa una diferencia significativa entre los tratamientos donde se aplicó una carga de la microcápsula del 30 % y una temperatura de entrada de 150 °C.

En la **Figura 7**, se realizó un análisis con todos los rendimientos obtenidos de los 8 tratamientos realizados. Aquí se pudo determinar que los tratamientos que presentaron los mejores rendimientos fueron aquellos donde se aplicó una carga de vitamina D₃ comercial del 30 % y una temperatura de entrada de 150 °C. Esto concuerda con lo mencionado por **Frascareli et al., (2012)**, quien comenta que durante el proceso de microencapsulación a mayor concentración de sólidos y a menor temperatura de entrada, el polvo final obtenido será mayor. Esto por la menor degradación del componente bioactivo causado por la presencia de una mayor carga de este y por la poca adherencia del polvo a las paredes del equipo por el correcto secado de las partículas, debido a la evaporización más lenta del solvente causado por la temperatura de entrada más baja (**Mehta et al., 2022**). De igual manera, el análisis ANOVA (**Anexo 6**) permitió comprobar la diferencia estadísticamente significativa de los tratamientos por el valor p obtenido, siendo este menor al establecido ($p < 0.05$).

3.1.2. Evaluación cualitativa de la eficiencia de la microencapsulación mediante Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier (FI-TR)

Una vez obtenido el microencapsulado, el análisis de la eficiencia de la microencapsulación es de suma importancia para determinar si el compuesto bioactivo fue encapsulado correctamente. Existen varias técnicas con las cuales se puede analizar la eficiencia de la microencapsulación, siendo la Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier (FT-IR) una de las más implementadas. Esto se debe a que esta técnica emplea la Transformada de Fourier para obtener los espectros reales, proporcionando información a nivel molecular que permite determinar las vibraciones de grupos funcionales, tipos de enlaces y conformaciones moleculares de la muestra de interés (Movasaghi et al., 2008). Así mismo, esta técnica ha llamado la atención de la comunidad científica debido a que no requiere de una gran cantidad de muestra para el análisis, ya que puede operar incluso con microgramos o microlitros (Tiernan et al., 2020).

Es por esta razón, que para esta investigación se aplicó Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier para la identificación de los grupos funcionales característicos de la vitamina D₃ y de la mezcla polimérica. Además, se analizaron los distintos microencapsulados obtenidos para compararlos con los espectros de la vitamina y de los polímeros, de tal manera que se pueda comprobar la eficiencia de la microencapsulación.

Para esta investigación, inicialmente se analizó la vitamina D₃ comercial mediante espectroscopía FT-IR. En la **Figura 8** se puede apreciar el espectro de la vitamina D₃, donde se resaltaron los picos característicos de la vitamina. Cada uno de estos picos representa uno de los grupos funcionales y los tipos de enlace presentes en la muestra, obteniendo longitudes de onda de 3413.71 cm⁻¹, 2856.07 cm⁻¹, 1640.52 cm⁻¹, 1455.90 cm⁻¹, 1082.09 cm⁻¹ y 944.00 cm⁻¹, correspondientes al estiramiento del grupo hidroxilo (OH), al estiramiento del enlace C-H, al estiramiento del grupo carboxilo (CO), al estiramiento del grupo metilo (-CH₃), al estiramiento del anillo aromático y al

estiramiento del H del grupo sustituyente del anillo aromático, respectivamente (M. B. Santos, de Carvalho, et al., 2021).

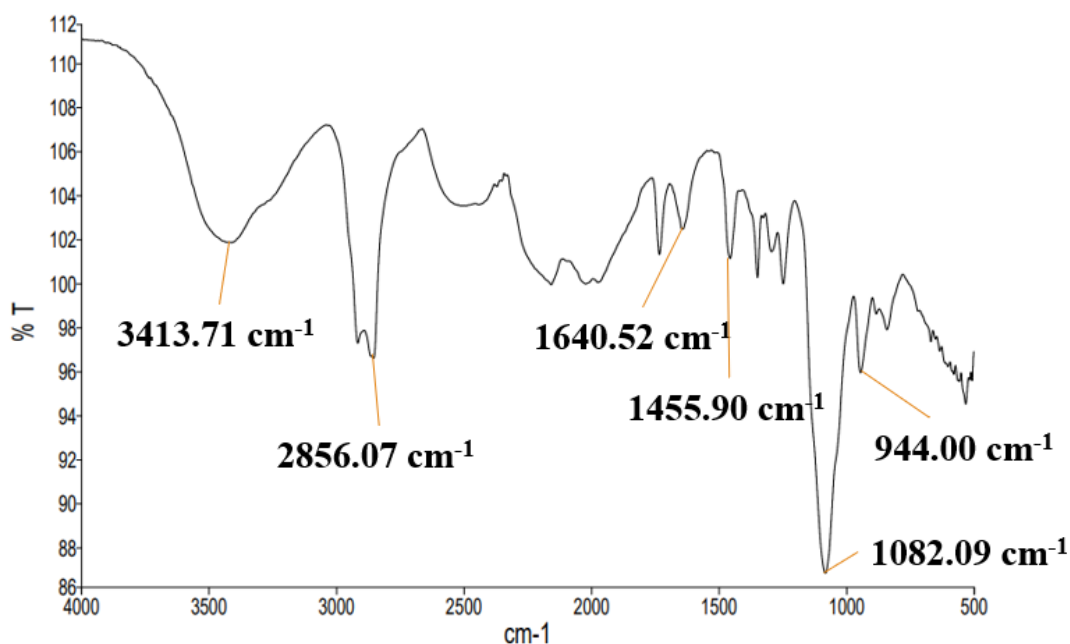


Figura 8. Resultado de la espectroscopía infrarroja de la vitamina D₃ comercial.

Estos valores fueron comparados con los resultados obtenidos por Liu et al., (2020), presentando longitudes de onda de 3310 cm⁻¹, 2940 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹, 1460 cm⁻¹, 1050 cm⁻¹ y 895 cm⁻¹. Estos picos se asemejan a los obtenidos en esta investigación, afirmando la presencia de la vitamina D₃ en la muestra.

Así mismo, se realizó un análisis de la mezcla polimérica para identificar la presencia de los polímeros encapsulantes, siendo estos la maltodextrina y la goma arábiga. En este caso debido a la mezcla de los polímeros, se analizan los grupos funcionales y tipos de enlaces característicos de cada compuesto según su estructura química. En la **Figura 9**, se pueden observar las distintas ondas de longitud analizadas en el espectro, siendo estas representativas para el estiramiento del grupo hidroxilo (3297.93 cm⁻¹), el estiramiento de los enlaces carbono-hidrógeno (2936.11 cm⁻¹), el estiramiento del grupo carboxilo (1730.95 cm⁻¹), la tensión de la unión carbono-oxígeno del grupo

carboxilo (1370.10 cm^{-1}), la tensión de la unión carbono-oxígeno del grupo hidroxilo (1147.60 cm^{-1}) y el estiramiento del anillo aromático (1012.09 cm^{-1}).

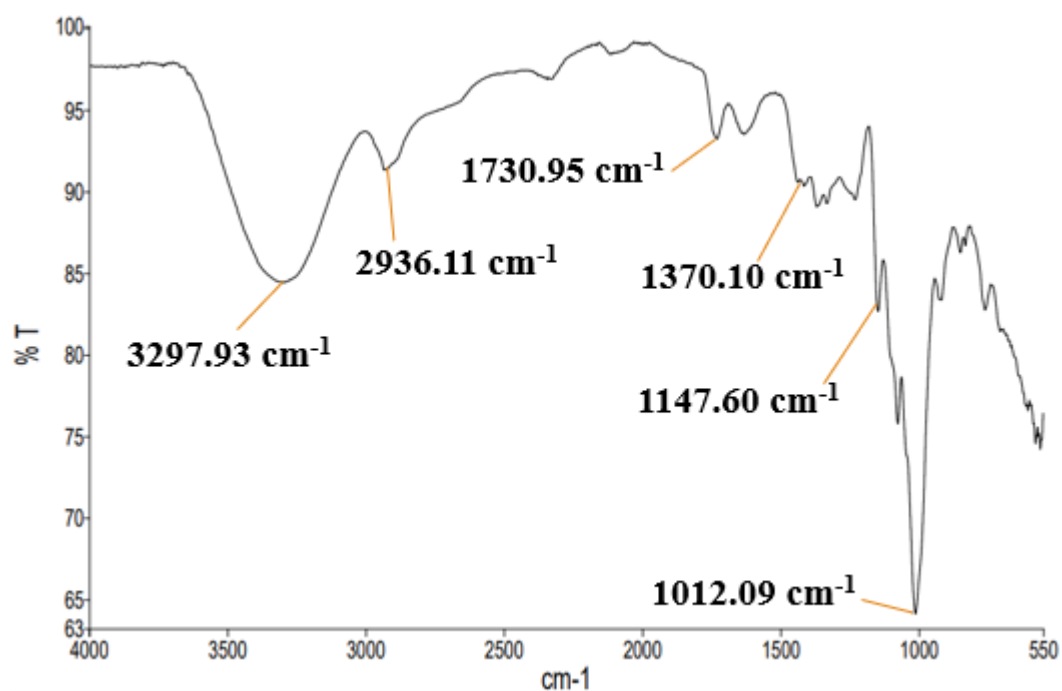


Figura 9. Resultado de la espectroscopía infrarroja de la mezcla polimérica (maltodextrina : goma arábica).

Una vez obtenido el espectro, se analizaron los grupos funcionales de cada compuesto y dado a que existe una gran similitud entre ambos puede establecerse que los picos representados en la **Figura 9** corresponden tanto para la maltodextrina como para la goma arábica. Esto se comparó con el estudio realizado por **Kang et al., (2019)**, en el cual microencapsuló clorofila empleando la mezcla polimérica de maltodextrina y goma arábica donde al analizar los espectros por separado se demostró que existe una gran similitud entre ambos compuestos, debido a su alta semejanza de los grupos funcionales presentes en ellos.

Con los espectros de la vitamina D₃ comercial y de la mezcla polimérica analizados, se obtuvieron los espectros respectivos de los microencapsulados que hayan presentado el mayor rendimiento en cada uno de los tratamientos realizados. La

finalidad de este análisis es comparar los espectros de los productos microencapsulados con los espectros de la vitamina y de la mezcla polimérica. A partir de esta comparación se puede deducir de manera cualitativa cual es el microencapsulado que presenta mayor eficiencia de microencapsulación, puesto que los espectros de la vitamina microencapsulada deben presentar una mayor similitud al espectro de la mezcla polimérica. Esto se debe a que en el proceso de microencapsulación el componente bioactivo es recubierto por la matriz polimérica, de tal manera que al momento de analizar las muestras el polímero encapsulante enmascarará los picos representativos de la vitamina, demostrando así que el compuesto fue encapsulado correctamente (**Teng et al., 2013**).

La alta eficiencia de microencapsulación puede deberse principalmente a los polímeros empleados, siendo estos la maltodextrina y la goma arábica. Esto se debe a que ambos polímeros presentan diferentes cualidades que benefician la microencapsulación de la vitamina D₃, puesto que la goma arábica ha sido empleada comúnmente para la microencapsulación de vitaminas liposolubles (A, E, D y K) por su capacidad emulsificante (**Ribeiro et al., 2020**). Por otro lado, la maltodextrina al presentar una alta solubilidad en agua permite el uso de soluciones viscosas, además de que suele generar superficies más estables en la matriz polimérica (**Burhan et al., 2019**). Por estas razones, la mezcla de ambos polímeros ha ganado importancia en los procesos de microencapsulación, dado que mejoran la continuidad estructural durante el proceso de atomización, generando una película encapsulante más estable.

Para este análisis se obtuvieron 4 gráficas, recopilando los espectros obtenidos según la carga de vitamina en la microcápsula y la relación de la mezcla polimérica (**Figuras 10 a 13**). En cada uno de los espectros analizados se puede observar como las bandas correspondientes a los microencapsulados presentan mayor similitud con la banda de la mezcla polimérica, más no con la banda de la vitamina D₃ comercial. Esto indica que todos los microencapsulados presentaron una alta eficiencia de microencapsulación, lo que indica que el componente bioactivo (VD₃) fue encapsulado de manera correcta.

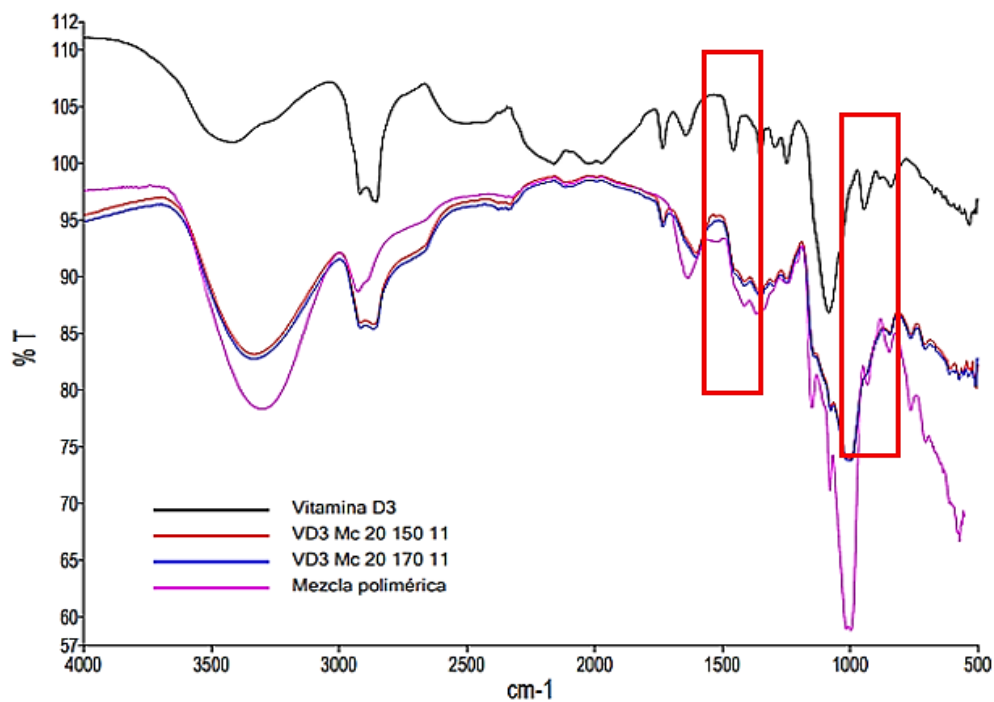


Figura 10. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D₃ con carga del 20%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 1:1.

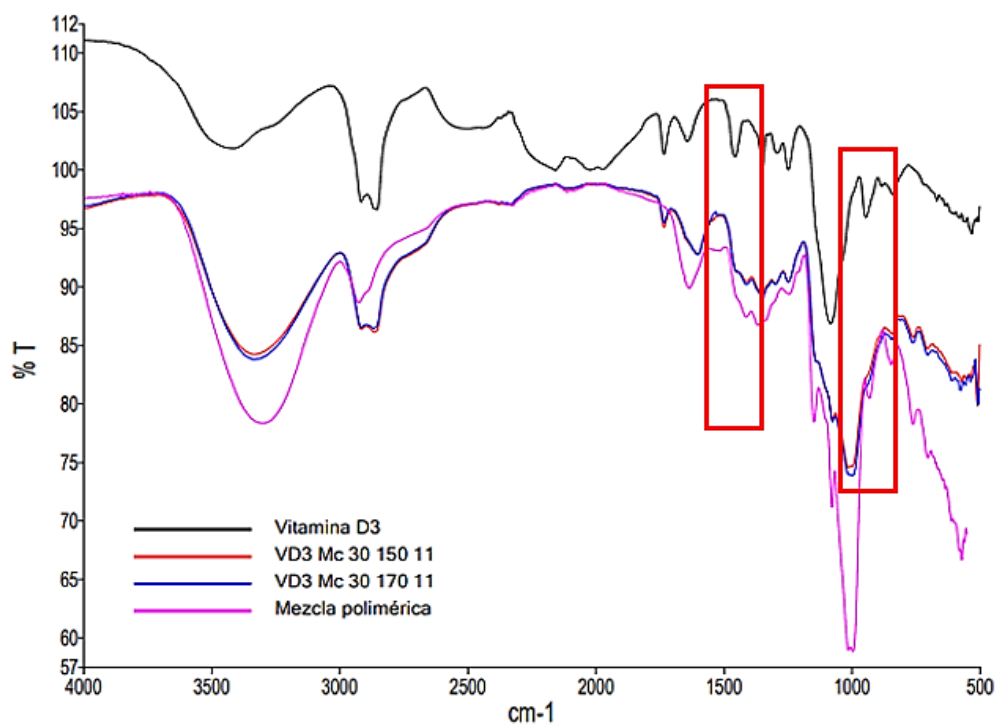


Figura 11. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D₃ con carga del 30%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 1:1.

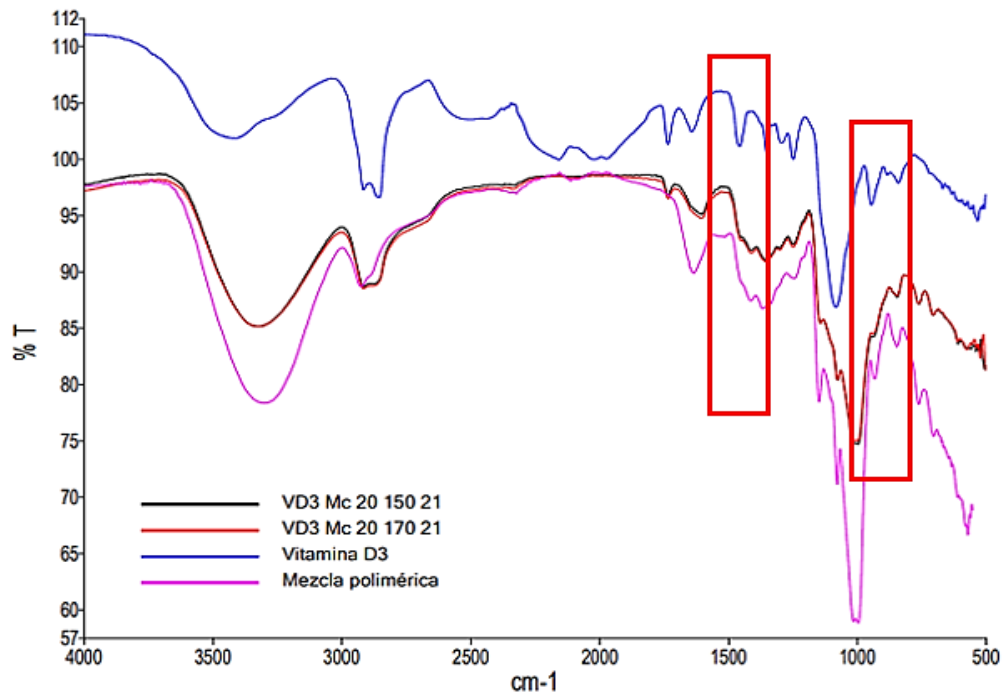


Figura 12. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D₃ con carga del 20%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 2:1.

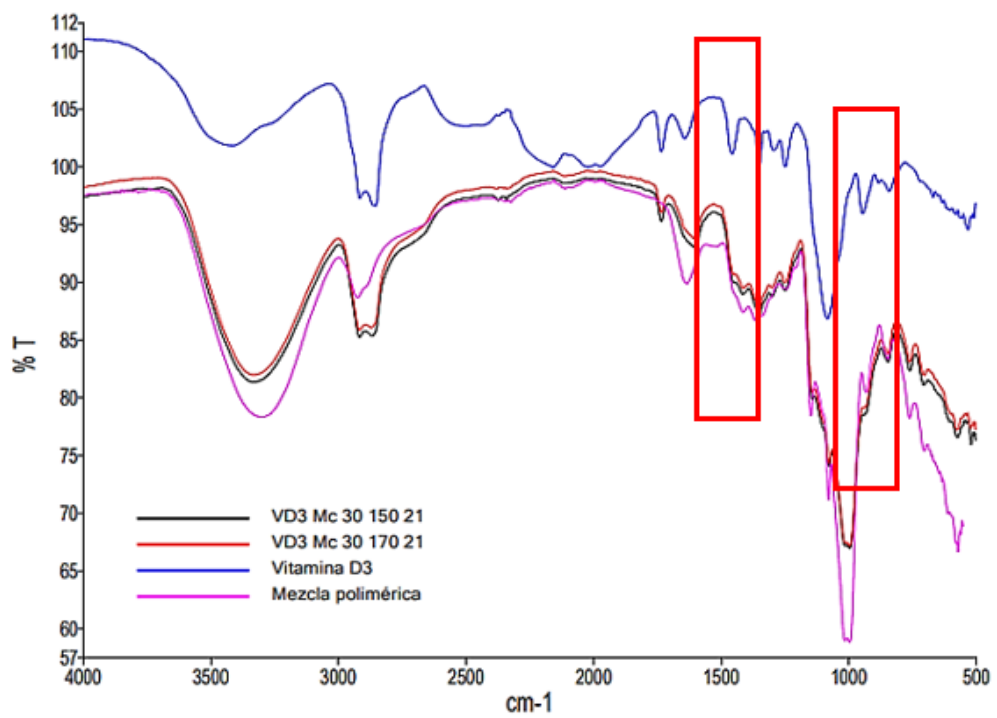


Figura 13. Resultados de la espectroscopía infrarroja de los microencapsulados de vitamina D₃ con carga del 30%, temperaturas de entrada de 150 y 170 °C, y una relación polimérica 2:1.

Al comparar cada uno de los espectros obtenidos de los distintos microencapsulados (**Figuras 10 a 13**), se puede observar que en cada uno de ellos los picos correspondientes a la número de onda de 1455.90 cm^{-1} (estiramiento grupo metilo) y 944.00 cm^{-1} (estiramiento del H del grupo sustituyente del anillo aromático) fueron enmascarados por la mezcla polimérica, indicando que la vitamina fue encapsulada. Por otro lado, el resto de los picos observados en el espectro de la vitamina D₃ (3413.71 cm^{-1} , 2856.07 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} y 1082.09 cm^{-1}) se encontraban presentes en las bandas de los microencapsulados, esto se debe a la similitud de los grupos funcionales que existe entre la vitamina y los distintos polímeros encapsulantes.

Sin embargo, aunque todos los microencapsulados hayan demostrado una correcta encapsulación de la vitamina D₃ por el enmascaramiento de los picos y su semejanza al espectro de la mezcla polimérica, el tratamiento donde se aplicó una carga del 30 %, temperatura de entrada de 150 °C y relación polimérica 2:1 fue el que presentó mayor similitud con la mezcla polimérica (**Figura 13**). Esto puede observarse en los rangos de número de onda de $3000\text{ a }3500\text{ cm}^{-1}$ y $1000\text{ a }2500\text{ cm}^{-1}$, donde la banda del microencapsulado se enmascara más con los polímeros.

La alta eficiencia de microencapsulación en este tratamiento puede deberse principalmente a la relación polimérica empleada, puesto que se aplica una mayor concentración de maltodextrina en la mezcla. Esto ocurre ya que la goma arábiga suele presentar porosidades en la matriz polimérica que recubre la vitamina, de tal manera que la misma puede filtrar la pared generando pérdidas del componente bioactivo. Mientras tanto, la maltodextrina al generar una capa superficial más estable, al existir una mayor concentración de este polisacárido en la mezcla polimérica generará una superficie con menos porosidades, permitiendo una mayor retención del componente bioactivo (**García et al., 2018**). Así mismo, la temperatura puede jugar un papel fundamental, puesto que los tratamientos donde se aplicaron temperaturas más altas presentaron una menor eficiencia y esto puede deberse a que la rápida evaporización del solvente suele generar rupturas en la matriz polimérica, lo que puede generar pérdidas filtraciones de la vitamina D₃ (**Mehran et al., 2020**).

3.1.3. Caracterización morfológica del microencapsulado obtenido mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Dentro de la microencapsulación, la caracterización morfológica de las partículas es de suma importancia ya que de esta manera se puede determinar la calidad de la superficie, el diámetro, la homogeneidad o heterogeneidad y el tipo de las partículas obtenidas. Para este tipo de análisis la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) es de las técnicas más empleadas debido a su alta eficacia en el análisis de materiales orgánicos e inorgánicos a escalas nanométricas o micrométricas. Otra razón por la cual esta técnica es de las más empleadas en este tipo de investigaciones es la alta resolución de las imágenes que se puede obtener, ya que el microscopio electrónico de barrido puede alcanzar una magnificación de la imagen hasta los 300000X (**Mohammed & Abdullah, 2018**).

Este análisis se lo llevo a cabo en la Universidad San Francisco de Quito, donde se encontraba el microscopio electrónico de barrido (JOEL) empleado para esta investigación. Allí se caracterizaron los tratamientos que hayan presentado el mayor rendimiento y la mayor eficiencia de microencapsulación. En ambos tratamientos se aplicó la misma carga de vitamina D₃ y la misma temperatura, siendo la relación de la mezcla polimérica la variación presente para este caso.

En la **Figura 14** se observan los resultados obtenidos para el tratamiento que presento mayor rendimiento, analizando las partículas con una resolución de imagen de 500X para la determinación del tipo de micropartículas, sus diámetros y la heterogeneidad de las mismas. Mientras que la resolución de imagen de 2000X se la empleo para el análisis de la calidad de la superficie de las micropartículas.

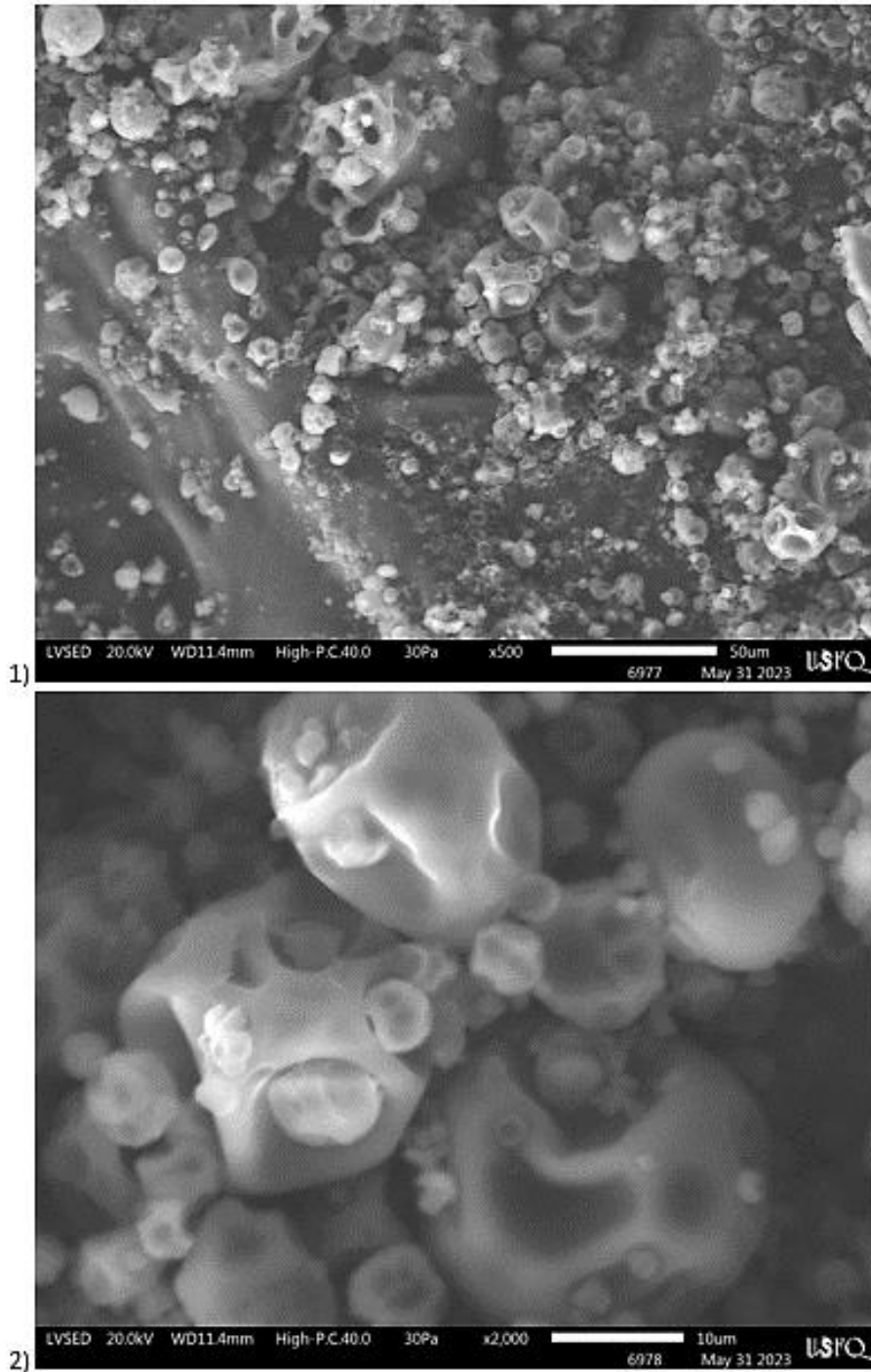


Figura 14. Resultados de la microscopía electrónica de barrido del tratamiento con mayor rendimiento.

Se presentan las micropartículas observadas utilizando el microscopio electrónico de barrido con condiciones de operación de 20 kV y 30 Pa. (1) Imagen analizada bajo una resolución de 500X con una escala de 50 µm. (2) Imagen analizada bajo una resolución de 2000X con una escala de 10 µm.

A una resolución de 500X (**Figura 14.1**) se puede identificar las micropartículas aglomeradas debido a la alta densidad de partículas presente en la muestra, además de que se aprecia la heterogeneidad de las mismas. Así mismo, se puede identificar que las partículas en cuestión se tratan de microcápsulas debido a los hundimientos presentes en la matriz polimérica. Estos hundimientos se presentan debido a que las microcápsulas cuentan con una matriz polimérica que protege al núcleo (componente bioactivo), la cual durante el proceso de secado por las temperaturas empleadas o por el flujo de aire de atomización adquiere estos hundimientos característicos. Esto no ocurre en las microsferas, puesto que el componente de interés se encuentra dispersa en la matriz, formando una partícula esférica (**Lengyel et al., 2019**).

En la resolución de 2000X (**Figura 14.2**) se puede observar las micropartículas a mayor escala (10 μm). Esto permite analizar de mejor manera la calidad de la superficie de las microcápsulas, de tal manera que se logra observar una superficie lisa sin rupturas en la matriz polimérica debido al correcto secado de las partículas. Esta cualidad de las microcápsulas obtenidas permite determinar que las partículas presentan una pared sólida sin rupturas o quiebres que podrían afectar la estabilidad del componente bioactivo (VD3). **Ribeiro et al., (2020)** en su estudio sobre la microencapsulación de vitamina A, aplica la mezcla de maltodextrina y goma arábiga como agentes encapsulantes obteniendo partículas que presentan irregularidades (hundimientos) en su matriz, comprobando que la microencapsulación de componentes liposolubles genera microcápsulas debido a su estructura superficial.

De igual manera, se realizó la caracterización de los microencapsulados obtenidos en el tratamiento que presentó mayor eficiencia de microencapsulación (**Figura 15**). Esto se llevó a cabo bajo las mismas condiciones de operación, obteniendo dos imágenes, una bajo una resolución de imagen de 500X y otra imagen bajo una resolución de 2000X.

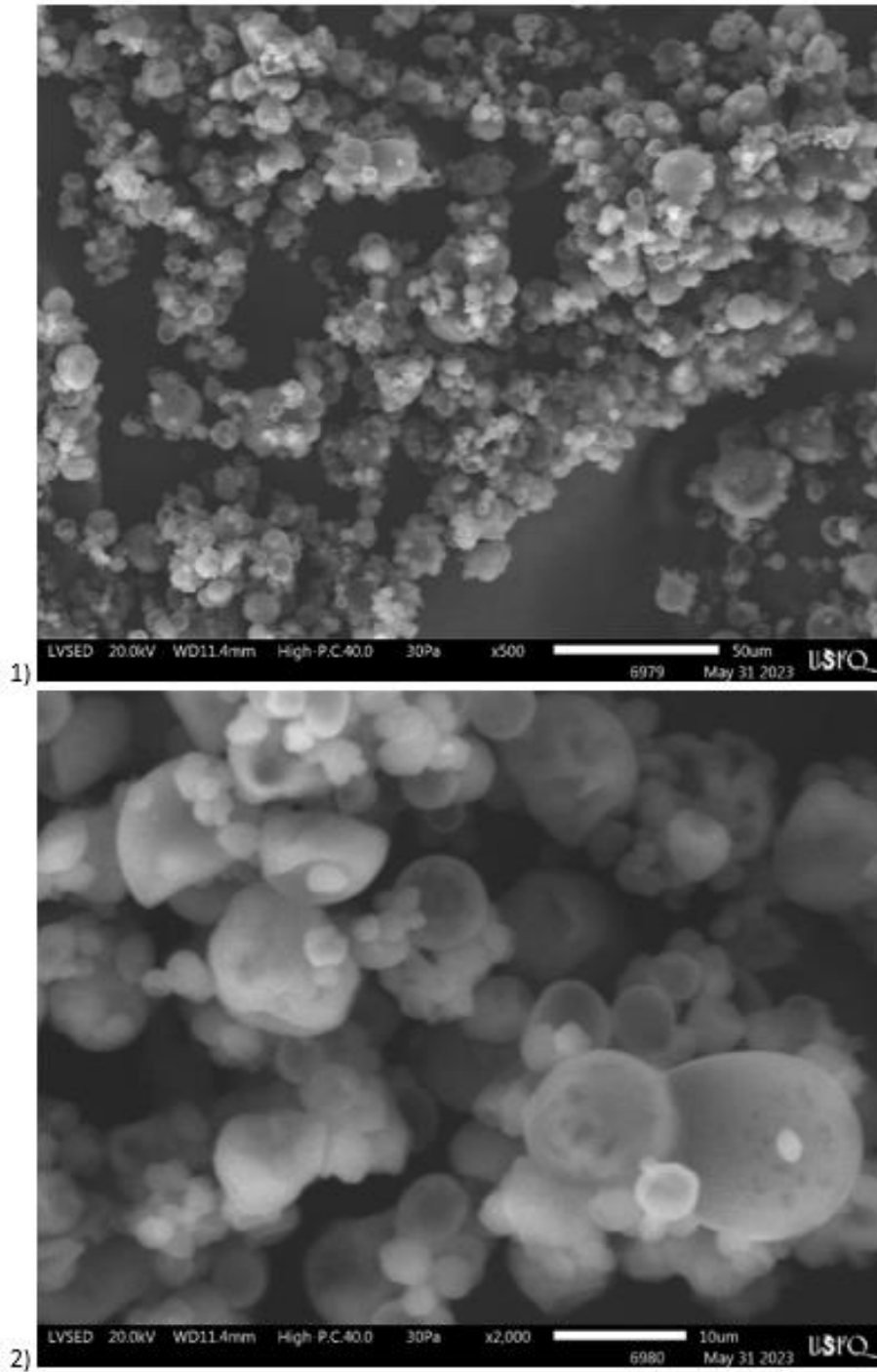


Figura 15. *Resultados de la microscopía electrónica de barrido del tratamiento con mayor eficiencia.*

Se presentan las micropartículas observadas utilizando el microscopio electrónico de barrido con condiciones de operación de 20 kV y 30 Pa. (1) Imagen analizada bajo una resolución de 500X con una escala de 50 µm. (2) Imagen analizada bajo una resolución de 2000X con una escala de 10 µm.

En la **Figura 15.1**, se pueden observar las microcápsulas analizadas bajo una resolución de 500X. A diferencia de la **Figura 14.1**, se puede apreciar que las microcápsulas con mayor eficiencia de microencapsulación son más homogéneas que las micropartículas con mayor rendimiento. Así mismo, se puede identificar que las partículas no presentan una forma esférica total, más bien presentan las irregularidades características de las microcápsulas.

En el caso de la **Figura 15.2**, al ampliar la magnitud de la imagen se puede determinar que las microcápsulas presentan una superficie de mayor calidad, dado que los hundimientos de la matriz polimérica no son tan pronunciados como se observa en la **Figura 14.2**. La razón de esta diferencia en la matriz polimérica se debe a la concentración de los polímeros empleados en la microencapsulación, puesto que en el tratamiento analizado en la **Figura 14**, presentaba una relación polimérica 1:1 (maltodextrina : goma arábica), mientras que en la **Figura 15**, el tratamiento analizado se lo realizó con una relación polimérica 2:1 (maltodextrina : goma arábica). Esto concuerda con lo establecido por **Shahid et al., (2020)**, cuya investigación aplicaba un diseño de mezclas poliméricas para la microencapsulación de aceite esencial de canela, en el cual identificó que la maltodextrina es el polímero que muestra los efectos más significativos en la matriz polimérica generada por la mezcla de maltodextrina y goma arábica.

Para el análisis de los diámetros de las microcápsulas se utilizó el software Fiji (ImageJ), aplicando el plugin Stardist (**Anexo 7**) de tal manera que se logró obtener los diámetros de un total de 1450 micropartículas para cada caso. Se realizó una gráfica de dispersión (**Figura 16**) en la que se analizó la frecuencia de los diámetros entre las distintas medidas arrojadas por el software.

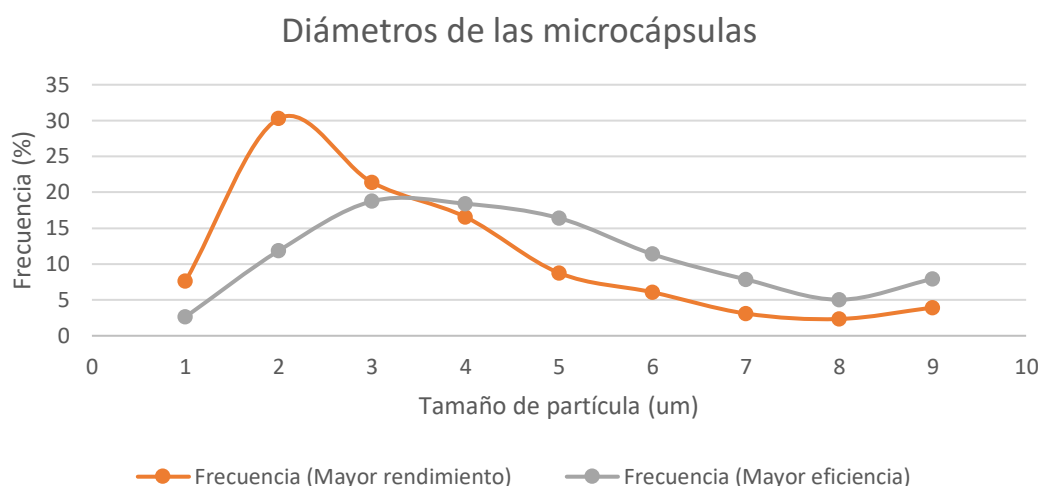


Figura 16. Gráfica de dispersión de los diámetros determinados en la microscopía electrónica de barrido.

La media de los diámetros obtenidos para el tratamiento con mayor rendimiento de microencapsulación fue de $3.98 \pm 2.15 \mu\text{m}$, mientras que para el tratamiento con mayor eficiencia de microencapsulación la media fue de $5.33 \pm 2.40 \mu\text{m}$. Estos valores fueron cercanos a lo establecido por **Dadkhodazade et al., (2018)**, cuyo estudio obtuvo microcápsulas de vitamina D₃, empleando células de levadura como agente encapsulante, con diámetros que variaban entre 3.43 y 7.91 μm , demostrando de igual manera que mientras más grande es la microcápsula mayor es la concentración de vitamina D₃ presente en el núcleo.

Así mismo, se determinó que el tratamiento con mayor rendimiento existe una mayor heterogeneidad de las micropartículas, puesto que los datos obtenidos de los diámetros se encuentran más dispersos a comparación del tratamiento que presentó mayor eficiencia (**Figura 16**). Esto se debe a que la maltodextrina tiene a formar partículas más pequeñas, de tal manera que a mayor concentración de maltodextrina las microcápsulas tienden a ser más homogéneas, tal y como lo menciona **Chawda et al., (2017)** en su estudio de co-encapsulación de vitamina B₁₂ y D₃, donde demuestra que la maltodextrina permite obtener partículas más pequeñas que la goma arábiga. Esto beneficia a la vitamina D₃ puesto que a mayor tamaño de partícula mayor es el riesgo de que se generen rupturas en la matriz polimérica.

3.2. Verificación de la hipótesis

$H_0 \neq 0$ Se rechaza la hipótesis nula

$H_a = 0$ Se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que la variación en las condiciones de operación mejora el rendimiento de la microencapsulación de vitamina D₃ comercial.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- La microencapsulación de la vitamina D₃ comercial mediante secado por aspersión permitió obtener un polvo blanquecino, en el que se demostró la eficiencia de microencapsulación mediante espectroscopía infrarroja y se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido las microcápsulas obtenidas.
- Se determinó la influencia de la carga de vitamina D₃, la temperatura de entrada y la relación polimérica en el proceso de microencapsulación de vitamina D₃, de tal manera que se identificó que la carga de sólidos de 30 % y la temperatura de entrada de 150 °C son las condiciones óptimas para la microencapsulación, ya que presentaron valores de 66.07 ± 1.74 y 64.09 ± 1.42 para las relaciones poliméricas 1:1 y 2:1 respectivamente.
- Se evaluó la eficiencia de los microencapsulados de manera cualitativa, determinando que el tratamiento que presentó la mayor eficiencia de microencapsulación fue el que se obtuvo a partir de una carga de sólidos de 30 %, temperatura de entrada de 150 °C y la relación polimérica 2:1 (MD:GA), siendo los polímeros los factores fundamentales puesto que a mayor concentración de maltodextrina la calidad de la matriz encapsulante era mayor.
- A partir de la implementación de la técnica de microscopía electrónica de barrido, se logró caracterizar los microencapsulados demostrando que las micropartículas obtenidas eran microcápsula debido a su estructura superficial, con diámetros de $3.98 \pm 2.15 \mu\text{m}$ para el tratamiento de mayor rendimiento y $5.33 \pm 2.40 \mu\text{m}$ para el tratamiento de mayor eficiencia. Además, se pudo observar que a mayor concentración de maltodextrina la calidad de la superficie era mayor.

4.2. Recomendaciones

- Realizar un estudio de estabilidad tanto de la vitamina D₃ comercial como del microencapsulado para comparar los resultados y determinar si la microencapsulación por secado por aspersión es una alternativa viable para el mejoramiento de la estabilidad de la vitamina D₃.
- Modificar diferentes condiciones de operación como la temperatura de salida, el flujo de atomización y el caudal de aspiración, para determinar su influencia en el proceso de microencapsulación de la vitamina D₃.
- Emplear otro tipo de polímeros encapsulantes para analizar si existe una variación en el rendimiento y la eficiencia de la microencapsulación de vitamina D₃.

MATERIALES DE REFERENCIA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amrein, K., Scherkl, M., Hoffmann, M., Neuwersch, S., Köstenberger, M., Tmava Berisha, A., Martucci, G., Pilz, S., & Malle, O. (2020). Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *European Journal of Clinical Nutrition*, 74(11). Springer Nature. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41430-020-0558-y>
- Arenas, M., Suñé, J., & García, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Berino, R., Báez, G., Ballerini, G., Llopart, E., Busti, P., Moro, A., & Delorenzi, N. (2019). Interaction of vitamin D3 with beta-lactoglobulin at high vitamin/protein ratios: Characterization of size and surface charge of nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 90, 182–188. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.027>
- BÜCHI Labortechnik AG. (2020). *B-290 Mini Spray Dryer Manual de instrucciones*.
- Burhan, A., Abdel-Hamid, S., Soliman, M., & Sammour, O. (2019). Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 36(3), 250–266. Doi: <https://doi.org/10.1080/02652048.2019.1620355>
- Calderón, M., & Ponce, E. (2022). The role of microencapsulation in food application. *Molecules*, 27(5). MDPI. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27051499>
- Chawda, P., Shi, J., Xue, S., & Young Quek, S. (2017). Co-encapsulation of bioactives for food applications. *Food Quality and Safety*, 1(4), 302–309. Oxford University Press. Doi: <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx028>
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426–442. Doi: <https://doi.org/10.1002/fft2.94>

- Dadkhodazade, E., Mohammadi, A., Shojaee-Aliabadi, S., Mortazavian, A. M., Mirmoghtadaie, L., & Hosseini, S. (2018). Yeast cell microcapsules as a novel carrier for cholecalciferol encapsulation: development, characterization and release properties. *Food Biophysics*, *13*(4), 404–411. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9546-3>
- Eslami, M., Shahedi, M., & Fathi, M. (2018). Development of hydrogels for entrapment of vitamin D3: physicochemical characterization and release study. *Food Biophysics*, *13*(3), 284–291. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9534-7>
- Fernandes, R., Borges, S., & Botrel, D. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, *101*(1), 524–532. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.083>
- Frascareli, E., Silva, V., Tonon, R., & Hubinger, M. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, *90*(3), 413–424. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002>
- García, C., Fernández, M., López, O., Delgado-Roche, L., Nogueira, A., Castiñeira, M., & Medrano, E. (2018). Spray drying of shark liver oil pool: Effects on physical-chemical properties and antioxidant capacity. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, *6*(1), 35–44. Recuperado de: <http://jppres.com/jppres>
- Holick, M. F. (2010). Vitamin D and health: evolution, biologic functions, and recommended dietary intakes for vitamin D. *Vitamin D*. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-303-9_1
- Ismailova, A., & White, J. (2022). Vitamin D, infections and immunity. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *23*(2), 265–277. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09679-5>
- Jannasari, N., Fathi, M., Moshtaghian, Ss, & Abbaspourrad, A. (2019). Microencapsulation of vitamin D using gelatin and cress seed mucilage: Production, characterization and in vivo study. *International Journal of*

Biological Macromolecules, 129, 972–979. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.096>

Jiang, S., Yildiz, G., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T., Almajwal, A., Abulmeaty, M., & Feng, H. (2019). Pea protein nanoemulsion and nanocomplex as carriers for protection of cholecalciferol (Vitamin D3). *Food and Bioprocess Technology*, 12(6), 1031–1040. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02276-0>

Kang, Y., Lee, Y., Kim, Y., & Chang, Y. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337–346. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>

Karrar, E., Mahdi, A., Sheth, S., Mohamed Ahmed, I., Manzoor, M., Wei, W., & Wang, X. (2021). Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurun seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 171, 208–216. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.045>

Khan, W., Butt, M., Pasha, I., & Jamil, A. (2020). Microencapsulation of vitamin D in protein matrices: in vitro release and storage stability. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3), 1172–1182. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00366-3>

Lengyel, M., Kállai-Szabó, N., Antal, V., Laki, A. J., & Antal, I. (2019). Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery. In *Scientia Pharmaceutica*, 87(3). MDPI AG. Doi: <https://doi.org/10.3390/scipharm87030020>

Liu, K., Kong, X., Li, Q., Zhang, H., Zha, X., & Luo, J. (2020). Stability and bioavailability of vitamin D3 encapsulated in composite gels of whey protein isolate and lotus root amylopectin. *Carbohydrate Polymers*, 227. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115337>

Mahdi Jafari, S., Masoudi, S., & Bahrami, A. (2019). A Taguchi approach production of spray-dried whey powder enriched with nanoencapsulated vitamin D3. *Drying*

Technology, 37(16), 2059–2071. Doi:
<https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1552598>

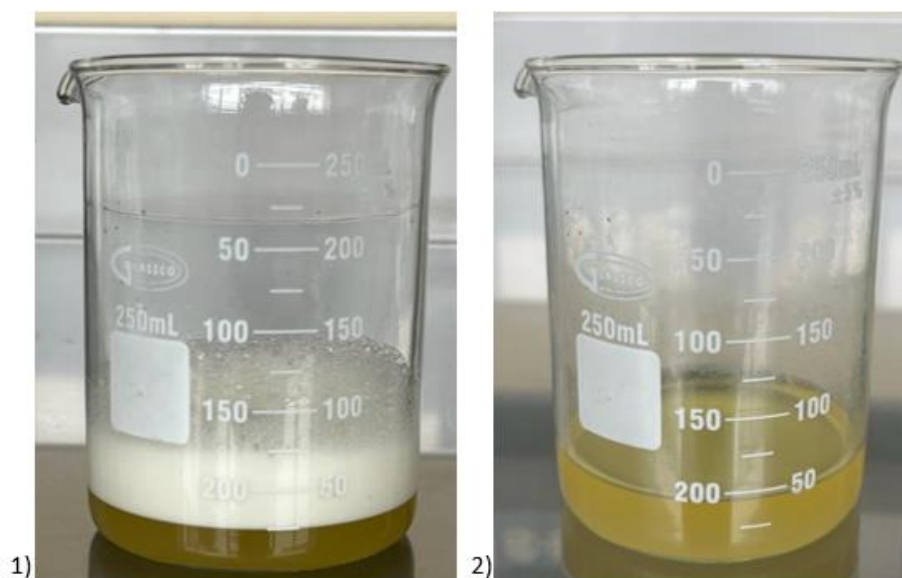
- Maurya, V., Bashir, K., & Aggarwal, M. (2020). Vitamin D microencapsulation and fortification: Trends and technologies. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 196. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105489>
- McKee, T., McKee, J., Araiza, M., & Hurtado, A. (2014). *Bioquímica : las bases moleculares de la vida*. McGraw-Hill Interamericana.
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Microencapsulation of mentha spicata essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial Crops and Products*, 154. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112694>
- Mehta, N., Kumar, P., Verma, A., Umaraw, P., Kumar, Y., Malav, O., Sazili, A., Domínguez, R., & Lorenzo, J. (2022). Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: A comprehensive review. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(3). Doi: <https://doi.org/10.3390/app12031424>
- Mohammed, A., & Abdullah, A. (2018). *Scanning electron microscopy (SEM): A review*.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. Doi: <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Nguyen, T., Le, T., Dang, N., Nguyen, D., Nguyen, P., Tran, T., Nguyen, Q., Bach, L., & Thuy P. (2021). Microencapsulation of essential oils by spray-drying and influencing factors. *Journal of Food Quality*, (2021). Doi: <https://doi.org/10.1155/2021/5525879>
- Pulido, A., & Beristain, C. (2010). Encapsulación de ácido ascórbico mediante secado por aspersión, utilizando quitosano como material de pared. 2(2). Recuperado de: www.amidiq.com

- Ramalho, M., Coelho, M., & Pereira, M. (2017). Nanoparticles for delivery of vitamin D: challenges and opportunities. *A Critical Evaluation of Vitamin D - Clinical Overview*. Doi: <https://doi.org/10.5772/64516>
- Ribeiro, A., Shahgol, M., Estevinho, B., & Rocha, F. (2020). Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106029>
- Santarosa, B., Peters, E., & Martini, L. A. (2015). Funciones Plenamente Reconocidas de Nutrientes Vitamina D. *Comité de Nutrición ILSI Brasil*.
- Santos, D., Maurício, A., Sencadas, V., Santos, J., Fernandes, M., & Gomes, P. (2018). Spray drying: An overview. *Biomaterials - Physics and Chemistry - New Edition*. Doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.72247>
- Santos, M., de Carvalho, C., & Garcia-Rojas, E. (2021). Microencapsulation of vitamin D3 by complex coacervation using carboxymethyl tara gum (*Caesalpinia spinosa*) and gelatin A. *Food Chemistry*, 343. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128529>
- Santos, M., Geraldo de Carvalho, M., & Garcia-Rojas, E. (2021). Carboxymethyl tara gum-lactoferrin complex coacervates as carriers for vitamin D3: Encapsulation and controlled release. *Food Hydrocolloids*, 112. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106347>
- Shahidi Noghabi, M., & Molaveisi, M. (2020). Microencapsulation optimization of cinnamon essential oil in the matrices of gum Arabic, maltodextrin, and inulin by spray-drying using mixture design. *Journal of Food Process Engineering*, 43(2). Doi: <https://doi.org/10.1111/jfpe.13341>
- Shamaei, S., Seiedlou, S., Aghbashlo, M., Tsotsas, E., & Kharaghani, A. (2017). Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 101–112. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.11.011>

- Shishir, M., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 34–60. Elsevier Ltd. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018>
- Sirajudeen, S., Shah, I., & Al Menhali, A. (2019). A narrative role of vitamin d and its receptor: With current evidence on the gastric tissues. In *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20153832>
- Teng, Z., Luo, Y., & Wang, Q. (2013). Carboxymethyl chitosan-soy protein complex nanoparticles for the encapsulation and controlled release of vitamin D3. *Food Chemistry*, 141(1), 524–532. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.043>
- Tiernan, H., Byrne, B., & Kazarian, S. (2020). ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 241. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118636>
- Wilson, L., Tripkovic, L., Hart, K., & Lanham-New, S. (2017). Vitamin D deficiency as a public health issue: Using Vitamin D2 or Vitamin D3 in future fortification strategies. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76(3), 392–399. Doi: <https://doi.org/10.1017/S0029665117000349>
- Yildiz, G., Ding, J., Andrade, J., Engeseth, N. J., & Feng, H. (2018). Effect of plant protein-polysaccharide complexes produced by mano-thermo-sonication and pH-shifting on the structure and stability of oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 317–325. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.005>

ANEXOS

Anexo 1. Emulsiones de vitamina D₃, maltodextrina, goma arábica y agua destilada.



(1) Emulsión recién homogeneizada. (2) Emulsión reposada durante 24 h. Se observa la diferencia de volumen presente en la emulsión causada por la presencia de espuma en la muestra.

Anexo 2. Rendimiento obtenido en la microencapsulación preliminar.

Tratamiento	Rendimiento (%) R ₀
20 %; 150 °C; 1:1	36.85
20 %; 170 °C; 1:1	26.84
20 %; 150 °C; 2:1	33.98
20 %; 170 °C; 2:1	29.77
30 %; 150 °C; 1:1	47.91
30 %; 170 °C; 1:1	27.46
30 %; 150 °C; 2:1	45.73
30 %; 170 °C; 2:1	29.16

Se presentan los valores obtenidos del rendimiento de la microencapsulación preliminar, empleando la emulsión una vez homogeneizada (presencia de espuma).

Anexo 3. Rendimientos obtenidos en la microencapsulación de las réplicas de los distintos tratamientos realizados.

Tratamiento	Rendimiento (%)		
	R1	R2	R3
20 %; 150 °C; 1:1	42.93	45.17	43.41
20 %; 170 °C; 1:1	40.19	42.18	40.32
20 %; 150 °C; 2:1	44.73	44.12	43.74
20 %; 170 °C; 2:1	42.98	40.22	41.12
30 %; 150 °C; 1:1	64.13	67.48	66.59
30 %; 170 °C; 1:1	39.02	40.33	38.95
30 %; 150 °C; 2:1	62.57	64.32	65.93
30 %; 170 °C; 2:1	40.66	41.30	38.23

Se presentan los porcentajes del rendimiento de microencapsulación de las 3 réplicas de los tratamientos realizados.

Anexo 4. Tabla ANOVA para la comparación de medias de los tratamientos con carga de 20 %.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	24.9762	3	8.32541	6.85	0.0134
Intra grupos	9.722	8	1.21525		
Total (Corr.)	34.6982	11			

Anexo 5. Tabla ANOVA para la comparación de medias de los tratamientos con carga de 30 %.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1931.52	3	643.839	311.59	0.0000
Intra grupos	16.5303	8	2.06628		
Total (Corr.)	1948.05	11			

Anexo 6. Tabla ANOVA para la comparación de medias de todos los tratamientos realizados.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2535.28	7	362.183	220.74	0.0000
Intra grupos	26.2523	16	1.64077		
Total (Corr.)	2561.54	23			

Anexo 7. Medición de diámetros de las microcápsulas empleando el software Fiji (ImageJ).

