

Universidad
Politécnica
de Cartagena



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Industrial

Secado por Atomización de zumo de granada

Titulación: Master en Ingeniería
Ambiental y Procesos
Químicos y Biotecnológicos
Intensificación: Procesos Químicos y
Biotecnológicos
Alumno/a: Gracia M^a Miravet Valero
Director/a/s: Mercedes Alacid Cárceles
José M^a Obón de Castro

Cartagena, 9 de Noviembre de 2009

Capítulo 1

Introducción

1.1. Microencapsulación

- 1.1.1. Que es y para que microencapsular
- 1.1.2. Aplicaciones de la microencapsulación
- 1.1.3. Procesos para preparar microcápsulas

1.2. Microencapsulación mediante secado por atomización

- 1.2.1. La operación de secado por atomización
- 1.2.2. Ventajas y desventajas del proceso de secado por atomización
- 1.2.3. Etapas del proceso de secado por atomización
- 1.2.4. Principales variables del proceso de secado por atomización

1.3. Microencapsulación de zumos mediante secado por atomización

- 1.3.1. Los zumos y su microencapsulación
- 1.3.2. Microencapsulación del zumo de granada

Capítulo 2

Objetivos

Capítulo 3

Materiales y Métodos

- 3.1. Reactivos
- 3.2. Preparación de las muestras para el secado por atomización
- 3.3. Operación y puesta en marcha del secador por atomización
- 3.4. Métodos de medida

Capítulo 4

Resultados y Discusión

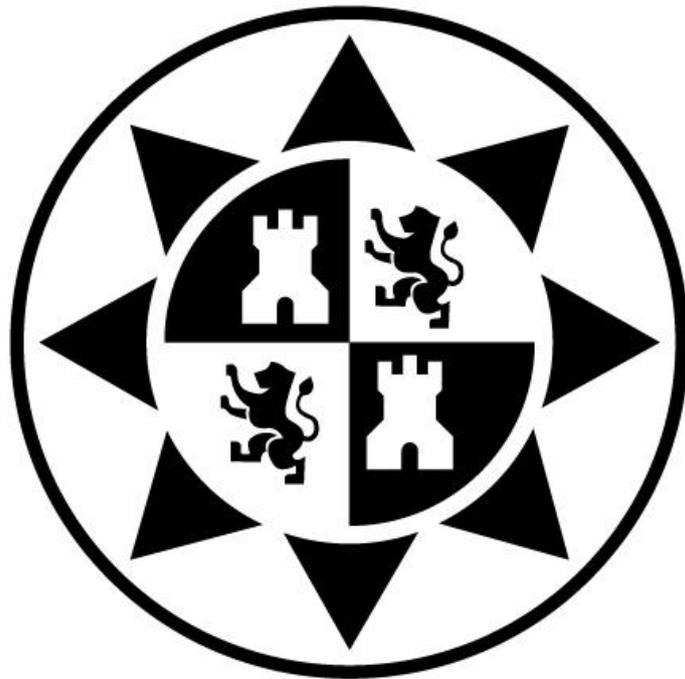
- 4.1. Caracterización del concentrado del zumo de granada
 - 4.1.1. Espectro del zumo de granada
 - 4.1.2. Medida de la densidad del concentrado de granada
 - 4.1.3. Cálculo del peso seco del zumo de granada
- 4.2. Optimización de las condiciones de secado
 - 4.2.1. Estudio de las condiciones de secado viables
 - 4.2.2. Optimización de la relación encapsulante/zumo de granada
 - 4.2.3. Optimización de otras variables
- 4.3. Caracterización de los microencapsulados obtenidos
 - 4.3.1. Estabilidad de los antocianos durante el proceso de secado
 - 4.3.2. Análisis de fenoles totales
 - 4.3.3. Análisis de la actividad antioxidante
 - 4.3.4. Análisis de muestras con el HPLC
 - 4.3.5. Densidad aparente y test de disolución
 - 4.3.6. Análisis TEM y tamaño de partícula
 - 4.3.7. Análisis de la higroscopicidad del producto seco

Capítulo 5

Conclusiones

Capítulo 6

Bibliografía



Capítulo 1

Introducción

1. Introducción

1.1. Microencapsulación

1.1.1. Que es y para que microencapsular

Los microencapsulación es el proceso por el cual partículas individuales o gotas de un material activo (core) se rodean por una cubierta (shell) para producir cápsulas en el rango de micras a milímetros, conocidas como microcápsulas. Cuando las partículas poseen un tamaño inferior a $1\ \mu\text{m}$, el producto resultante del proceso de encapsulación recibe la denominación de “nanocápsulas” (Vila Jato, 1997).

La microcápsula más simple posee una estructura que está compuesta por dos elementos, el material activo y una delgada pared que envuelve el primero (figura 1).

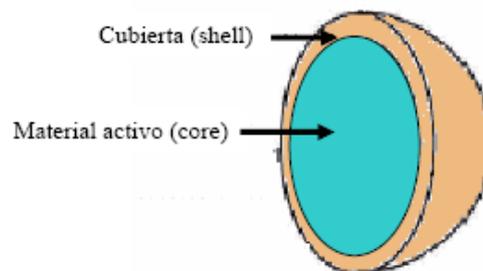


Figura 1: Estructura general de una microcápsula.

Si consideramos un mismo volumen de material, el área superficial que se consigue con nanocápsulas esféricas en comparación con microcápsulas esféricas es mucho mayor. Así, por ejemplo con esferas de $100\ \mu\text{m}$ se consiguen áreas de $60\ \text{cm}^2/\text{mL}$ mientras que con esfera de $1\ \mu\text{m}$ de diámetro se consiguen áreas de $6000\ \text{cm}^2/\text{mL}$, es decir, 100 veces mayores (figura 2).

Si consideramos la estructura de una microcápsula simple y queremos utilizar un mismo volumen de material activo y de material de cubierta a la relación de diámetros (interno vs externo) debe ser 0.794.

Esto significa que una microcápsula de 100 μm tendrá un espesor de 10.3 μm , mientras que una microcápsula de 1 μm tendrá de 0.1 μm . Así la protección del material activo será más efectiva en las partículas más grandes.

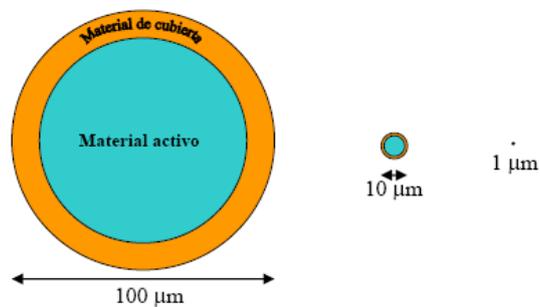


Figura 2: Imágenes de microcápsulas de diferentes diámetros con un mismo volumen de material activo y de material de cubierta.

1.1.2. Aplicaciones de la microencapsulación

La aplicación de la microencapsulación alcanza campos muy variados:

- En la agricultura se utiliza al formular algunos insecticidas, fungicidas y en los fertilizantes de cesión lenta.
- En la industria alimentaria las microcápsulas se emplean para mantener la calidad de sustancias grasas, aceites, colorantes, saborizantes y aromatizantes.

En el caso de microencapsulados de componentes alimenticios la función del encapsulado ofrece muy diferentes posibilidades.

- Proteger los componentes alimenticios susceptibles de oxidación o descomposición del oxígeno, el agua y la luz.
 - Mejorar el manejo de líquidos, convirtiéndolos en sólidos para que se puedan incorporar en otros preparados alimenticios. El transporte del material sólido resulta mucho más rentable, debido a su menor peso y mayor manejabilidad.
- En cosmética y perfumería, es también frecuente su uso. Microcápsulas con sustancias olorosas liberan el perfume al frotar suavemente tras su aplicación.
- En farmacia reducen el efecto directo irritante causado por algunos medicamentos en la mucosa gástrica. Consiguen una liberación sostenida o controlada del principio activo a partir de la forma farmacéutica y también que la liberación se produzca a modo de pulsos a un determinado pH.

1.1.3. Procesos para preparar microcápsulas

Como visión general de la microencapsulación, decir que existen algunos tipos de procesos que están basados exclusivamente en fenómenos físicos, otros usan reacciones químicas de polimerización para producir la pared de la cápsula, y otras combinan los métodos físicos y químicos. Como existen muchos tipos de microencapsulación se van a clasificar de acuerdo con la bibliografía consultada en dos grupos (Vilstrup, 2004).

- **Procesos de microencapsulación de tipo A**, basados en procesos químicos:
Entre los procesos de microencapsulación tipo A se encuentra: *coacervación compleja, polímero-polímero incompatible, y proceso de inyección sumergido.*
- **Procesos de microencapsulación de tipo B**, basados en procesos físicos.
Secado por atomización (spray drying), enfriamiento tras atomización (spray chilling), recubrimiento en lecho fluidizado, disco giratorio con orificios múltiples.

Vemos uno a uno cada proceso de microencapsulación.

Tipo A. Microencapsulación por métodos químicos.

- Coacervación compleja (Hellman, 2000)

Coacervación compleja es el proceso de separación de fases que tiene lugar de forma espontánea cuando en un medio acuoso se mezclan dos o más coloides que presentan carga opuesta (policación y polianión), como consecuencia de la atracción electrostática que sufren. En los procedimientos de microencapsulación por coacervación compleja se utilizan generalmente combinaciones de una proteína y un polisacárido, en concreto gelatina y goma arábiga (goma acacia) respectivamente. En el proceso de microencapsulación por coacervación el aspecto más importante que hay que tener en cuenta es el control de pH, ya que determina la ionización de ambos coloides, así como la proporción relativa en que se mezclan estos y la concentración polimérica total.

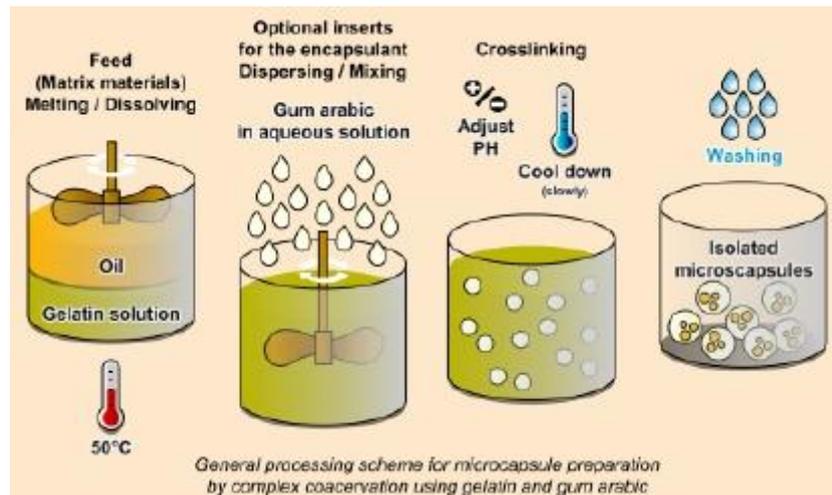


Figura 3: Formación de microcápsulas por coacervación compleja.

- Polímero-polímero incompatible

Se basa en inducir la separación de fases añadiendo un polímero incompatible con el polímero fundador de la cubierta. Un polímero incompatible es aquel polímero que presenta una mayor solubilidad en el disolvente que el propio polímero de recubrimiento, no teniendo, en cambio, afinidad por el material que se va a encapsular. Por lo tanto, a medida que se añade el polímero incompatible, se produce la desolvatación del de recubrimiento, que se separa y deposita alrededor de las partículas suspendidas en el medio.

- Procesos de inyección sumergida

Es un proceso en el que una copa perforada, la cual contiene la fase acuosa, se sumerge en un baño de aceite. La fase del agua de esta emulsión es una disolución concentrada de un polímero soluble en agua. La gelatina es un ejemplo específico. Se rota la copa, que está sumergida en el aceite, de tal modo que en la fase del aceite se forma una corriente de gotitas de una emulsión aceite/agua. Controlando la temperatura del baño de aceite la fase externa de las gotitas de la emulsión se sacan y

gelifican para crear cápsulas de aceite cargados del gel que pueden ser aisladas y secadas. Cuando están aisladas las cápsulas consisten en un número de gotitas pequeñas del material activo dispersadas a través de una matriz del material de la pared.

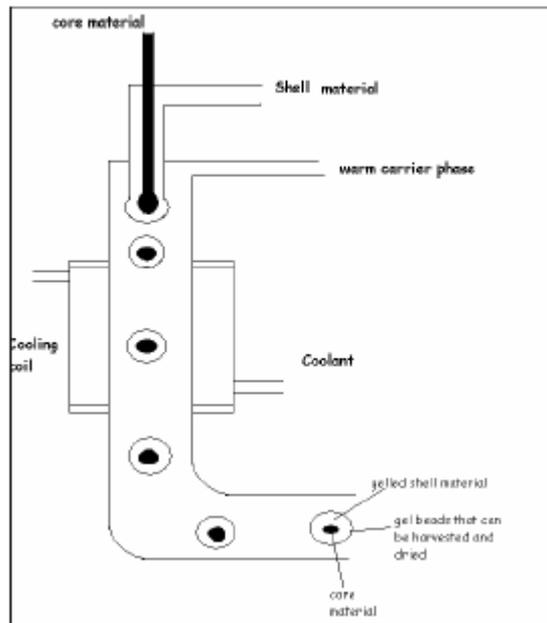


Figura 4: Esquema del sistema de boquilla de dos fluidos sumergida.

Tipo B. Microencapsulación por métodos físicos

- Secado por atomización

Consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido, ya sea como disolución o como una dispersión, en forma de finas gotas sobre una corriente de gas calentado. Cuando las pequeñas gotas del líquido se ponen en contacto con el gas a mayor temperatura, se produce una rápida evaporación del disolvente, formándose una fina película del material de recubrimiento que se encuentra disuelto en él (Hellman, 2000).

Un equipo de secado por atomización se compone, esencialmente, de un sistema de alimentación de líquido, un dispositivo de atomización, que por lo general consiste en una boquilla de atomización, una cámara de secado y un sistema colector del producto seco.

Para efectuar la microencapsulación, el material de recubrimiento se disuelve en un disolvente apropiado y en esta disolución se dispersa la sustancia, sólida o líquida, que va a servir como material activo. La dispersión, en estado líquido, preparada en estas condiciones, se suele introducir en la cámara de secado con aire en contracorriente. El aire caliente proporciona el calor de evaporación requerido para la separación del disolvente, produciéndose en esta forma la microencapsulación. Por otra parte, las partículas sólidas se microencapsulan sometiendo a secado por atomización una suspensión de ellas en una disolución del agente de recubrimiento. Cuando el disolvente se evapora, el material de recubrimiento envuelve las partículas.

El producto que se obtiene por este procedimiento está constituido por microcápsulas de forma aproximadamente esférica y de un tamaño que varía entre 5 y 600 micras y que, casi siempre, presenta una cubierta porosa. Por esta razón cuando se procesan materiales por este método es necesario emplear una baja proporción del ingrediente que va a constituir el material activo ya que, para asegurar una adecuada protección, es necesario que la cubierta ocupe un porcentaje importante de la microcápsula total.

- Enfriamiento tras atomización

Este método es muy similar al de secado por atomización. El material se dispersa en un medio líquido y se somete posteriormente a atomización. La diferencia reside en que, en este procedimiento, se usa la sustancia de recubrimiento fundida y tras ser sometida a atomización se produce un enfriamiento que provoca su solidificación produciéndose, de esta manera, la microencapsulación de la sustancia que se encuentra dispersa (Hellman, 2000).

- Recubrimiento en lecho fluido

En este procedimiento la microencapsulación se produce al suspender las pequeñas partículas que forman el material activo en un lecho de aire, u otro gas, al mismo tiempo que se dispersa sobre ellas, en forma de fina lluvia, una disolución del material de recubrimiento. La película se forma por evaporación del disolvente el cual a su vez, es separado por el aire o el gas que abandona el sistema (Raghavan, 2007). Este procedimiento lo desarrolló inicialmente Würster. El aparato en el que se lleva a cabo, se denomina cámara de Würster y consiste en una columna vertical, estrecha en la parte inferior y más ancha en la superior. La microencapsulación se realiza introduciendo una corriente de aire desde el fondo; la velocidad del aire en la parte más estrecha de la columna es considerable, de tal manera, que las partículas que van entrando en esta zona, son de inmediato levantadas hacia la parte superior. En la parte más ancha de la columna, la velocidad del aire disminuye notablemente haciendo que el aire no sea capaz de sostener las partículas en suspensión, provocando la caída de estas hacia la zona central o región de trabajo. La velocidad de la corriente de aire en la zona de trabajo puede ser regulada mediante toberas colocadas a una cierta altura.

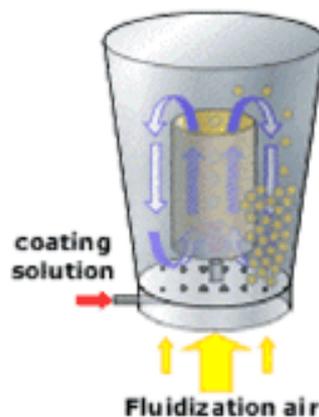


Figura 5: Cámara de Würster.

La microencapsulación por recubrimiento en lecho fluido se aplica ampliamente como tecnología farmacéutica para producir microgránulos de acción sostenida, para mejorar las características de flujo de las partículas y para el recubrimiento de numerosas sustancias en tecnología de alimentos y otras industrias relacionadas.

- Disco giratorios con orificios múltiples

Este procedimiento aprovecha la fuerza centrífuga para proyectar el material activo contra la película del material que formará la cubierta de la microcápsula. Al chocar las partículas del material activo contra la película, esta las envuelve produciendo la microencapsulación.

Este procedimiento de microencapsulación se lleva a cabo en un aparato que consiste, esencialmente, en un disco giratorio que tiene dispuestos orificios en su parte externa. La figura 6, representa un esquema del aparato utilizado en la microencapsulación por este procedimiento. El material activo se introduce en el sistema mediante tolvas de alimentación y por medio de un dispositivo que los conduce hasta el centro del disco. Al girar esta, la fuerza centrífuga proyecta el material activo a la periferia, impulsándolo hacia los orificios que están dispuestos en la parte externa del cilindro. Por su parte el material de recubrimiento se introduce por dispositivos que lo hacen circular en la periferia del cilindro justo en la salida de los orificios que este posee. Al chocar las partículas con la película de recubrimiento se produce un englobamiento del material activo y cuando las fuerzas centrífugas de la masa del material activo y del material de recubrimiento sobrepasan la fuerza de cohesión de la película, se forman pequeñas cápsulas que se proyectan hacia fuera (Vilstrup, 2004).

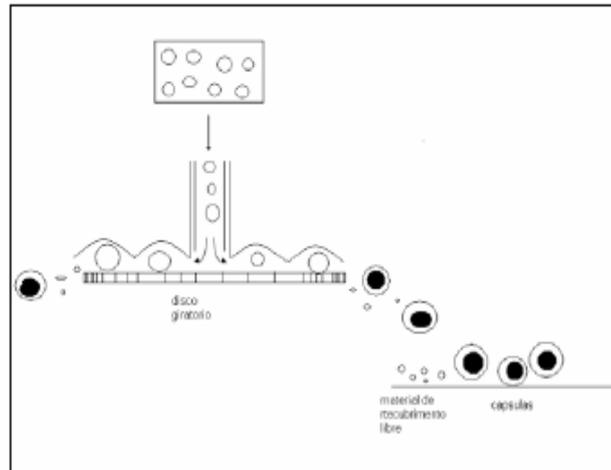


Figura 6: Sistema de microencapsulación por discos giratorios.

1.2. Microencapsulación mediante secado por atomización

1.2.1. La operación de secado por atomización

En la industria la obtención de productos en polvo a partir de materiales líquidos se lleva a cabo por medio de un proceso de secado por atomización (figura 7). El proceso de secado por atomización es capaz de transformar una disolución, una emulsión, una suspensión o una dispersión líquida en un producto totalmente seco y estable.

Inicialmente, a) el líquido se introduce en el equipo por medio de una bomba y se atomiza, b) a continuación se elimina el disolvente por medio de una corriente de aire caliente y c) como paso final los equipos utilizados en la industria presentan compartimentos de deposición de estas partículas para que al final sean recogidas en un vaso o recipiente cerrado.

Los bajos tiempos de residencia que se emplean y el efecto refrigerador debido a la evaporación, posibilita trabajar eficazmente con productos sensibles a la temperatura. Las ventajas frente a la liofilización son un rendimiento mayor, unos tiempos de procesamientos más cortos y su menor coste.

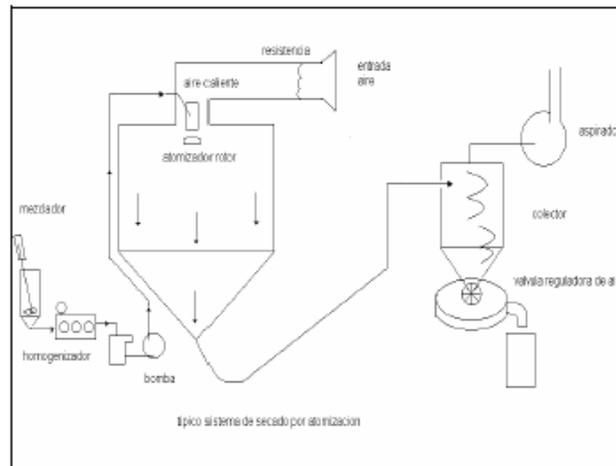


Figura 7: Sistema de secado por atomización típico.

1.2.2. Ventajas y desventajas del proceso de secado por atomización

El secado por atomización presenta tanto ventajas como inconvenientes (Mujumdar, 1995).

Las principales **ventajas del secado por atomización** son:

- Control de los parámetros de calidad del producto así como especificaciones concretas.
- Los alimentos sensibles al calor, los productos biológicos, y los productos farmacéuticos se pueden secar a presión atmosférica y a bajas temperaturas.

- El secado por atomización permite la producción de grandes cantidades en la operación continua y con un equipo relativamente simple.
- El producto entra en contacto con las superficies del equipo en condiciones anhidras, simplificando así los problemas de la corrosión y de selección de materiales costosos en la construcción del equipo.
- Produce partículas relativamente uniformes, esféricas y con casi la misma proporción de compuestos que en la alimentación líquida.
- Puesto que las temperaturas de funcionamiento del gas puede extenderse de 150 a 600 °C la eficacia es comparable a la de otros tipos de secadores directos.

Las **desventajas del secado por atomización** son:

- Falla si requiere un producto a granel de alta densidad.
- En general no es flexible. Una unidad diseñada para la atomización fina puede no poder producir un producto grueso, y viceversa.
- Para una capacidad dada, se necesita generalmente una evaporación mayor que con otros tipos de secadores.
- Hay una alta inversión inicial comparada a otros tipos de secadores continuos.
- La recuperación del producto y la eliminación del polvo aumenta el coste del secado.

1.2.3. Etapas del proceso de secado por atomización

Veamos en detalle las tres etapas del proceso de secado por atomización indicadas anteriormente: atomización, mezcla de aerosol-aire y evaporación de la humedad del producto, separación del producto seco del aire de salida, así como los equipos utilizados en cada una de ellas:

a) Atomización

La atomización es la operación más importante del proceso de secado, pudiendo emplearse diversas formas de energía para dispersar un líquido en gotas finas. El tipo de atomizador determina no sólo la energía requerida para formar el aerosol sino también el tamaño y la distribución de tamaño de las gotas y de su trayectoria y velocidad, así como el tamaño de partícula final. La predicción acertada del tamaño de la gotita permite controlar las características del polvo según lo deseado. El tamaño de la gota establece la superficie de traspaso térmico disponible y así la tarifa de secado.

La selección del tipo de atomizador depende de la naturaleza y de la cantidad de alimentación y de las características deseadas del producto secado. Cuanto más alta es la energía para la dispersión, más pequeñas son las gotitas generadas (Mujumdar, 1995).

La industria alimentaria utiliza normalmente tres tipos de atomizadores para el secado: ruedas giratorias, boquillas a presión de un fluido, y boquillas a presión de dos fluidos. En la tabla siguiente se comparan los rangos de tamaños de gota que se pueden obtener con cada uno de estos atomizadores.

Tabla 1: Rango de tamaños de gota obtenidos en el atomizado.

Tipo de atomización	Tamaño de gota
Ruedas giratorias	1-600 μm
Boquillas a presión de un fluido	10-800 μm
Boquillas a presión de dos fluidos	5-300 μm

Los más usados a nivel industrial son los atomizadores de rueda giratoria y los atomizadores de boquilla a presión de un líquido. El diseño del cilindro de secado (compartimiento de secado) está influenciado por el tipo de atomizador utilizado.

Las características de los atomizadores se explican a continuación.

- Ruedas giratorias

El diámetro del orificio de atomización y las revoluciones de la rueda influyen en el tamaño de la partícula resultante (figura 8). El tamaño de partícula puede ser variado cambiando la velocidad del atomizador con respecto a la velocidad periférica de la rueda. Una rueda con un diámetro grande que funciona a una velocidad fija producirá partículas pequeñas, mientras que una rueda de diámetro pequeño que funcione a la misma velocidad fija producirá partículas más grandes.

Las ruedas tienen pocas aberturas para que la alimentación líquida salga de la rueda. Esto da lugar a una mayor cantidad de alimentación que es forzada fuera de cada agujero, así se crea una partícula más grande (aproximadamente 30-50 micras).

El sistema utiliza un compartimiento de secado con una relación longitud/diámetro baja que permite que las partículas se sequen en dirección horizontal antes de golpear las paredes.

- Boquillas a presión de un fluido

Las boquillas a presión de un fluido crea el aerosol como consecuencia de presiones que oscilan de 5 a 7 MPa (50-70 bar) y que ejerce el líquido al pasar a través del orificio de la boquilla. El diámetro del orificio es generalmente pequeño, de 0.4 a 4 mm, y la capacidad generalmente de la boquilla no excede de 100 L/h. cuando el caudal de entrada es elevado se pueden utilizar varias boquillas en el compartimiento de secado. El compartimiento de secado suele tener una relación longitud/diámetro alta.

Con este tipo de boquilla es posible producir las gotitas dentro de una gama estrecha de diámetros y las partículas secadas son generalmente esferas huecas.

Las boquillas a presión de un fluido no son convenientes para suspensiones altamente concentradas y materiales abrasivos debido a su tendencia a obstruir y a erosionar el orificio de la boquilla. El consumo de energía de una boquilla a presión de un fluido es muy bajo en comparación con el del atomizador de rueda (Mujumdar, 1995).

- Boquillas a presión de dos fluidos

El sistema de dos fluidos utiliza una boquilla que trabaja con aire comprimido o vapor para atomizar el líquido. En este caso la alimentación se mezcla con el aire fuera del cuerpo de la boquilla.

Aproximadamente son necesarios 0.5 m^3 de aire comprimido para atomizar 1 Kg de líquido. La capacidad de una sola boquilla no excede generalmente los 1000 Kg/h de alimentación. Los aerosoles de alimentaciones poco viscosas se caracterizan por tamaños de gotita de medio a bajo y un alto grado de homogeneidad, con alimentaciones altamente viscosas, se producen tamaños más grandes de la gotita pero la homogeneidad no es tan alta.

Estas boquillas producen gotitas grandes o pequeñas según el cociente aire-líquido. El alto coste del aire comprimido (rango de presiones, 1.5-8 bares) llega a ser importante para la economía de estas boquillas, que tienen el consumo de energía más alto de los tres tipos de atomizadores (Mujumdar, 1995).



Figura 8: Por orden: imágenes de atomizador de rueda giratoria, boquilla a presión de un fluido y boquilla a presión de dos fluidos.

- Boquilla atomización de tres fluidos

En este caso la alimentación proviene de dos fluidos independientes que se mezclan con el aire fuera del cuerpo de la boquilla. La boquilla de tres fluidos consiste en una boquilla que trabaja con aire comprimido por la vía exterior, y por las otras dos el encapsulante y el material activo de manera separada. En la figura se puede observar en detalle la disposición de las vías en la boquilla.

- A. Líquido interior
- B. Líquido exterior
- C. Aire

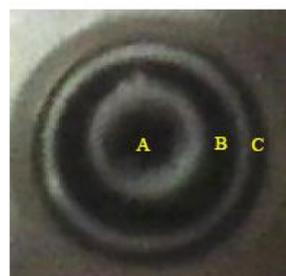


Figura 9: Detalle del extremo exterior de la boquilla de tres fluidos.

b) Mezcla del aerosol-aire y evaporación de la humedad del producto

Los equipos utilizados en la industria para el secado presentan un compartimiento al que llega el líquido atomizado por el pulverizador. Este compartimiento que tiene normalmente forma de cilindro es el encargado de llevar a cabo:

- El secado del producto eliminando el disolvente.
- El paso de la corriente de aire y partículas finas al siguiente compartimiento para la separación de las partículas secas.

La forma del cilindro de secado depende del tipo de atomizador empleado, ya que el ángulo del aerosol determina la trayectoria de las gotitas y por lo tanto el diámetro y la altura del compartimiento de secado (Snow, 2003).

Un factor importante en el diseño de un secador por atomización es la manera en la que el atomizado se pone en contacto con el aire de secado, pues influye en el comportamiento de las gotas durante el secado y por tanto en las propiedades del producto seco. La mezcla es un aspecto importante y define el método de secado por atomización. Podemos distinguir tres posibilidades en el secado por atomización (figura 10).

- Flujo co-corriente
- Flujo contracorriente
- Flujo combinado

A continuación se verá con detalle cada una de estas posibilidades.

- Flujo co-corriente. El material se atomiza en la misma dirección con la que el flujo de aire caliente pasa por el aparato. Las gotas entran en contacto con el aire caliente cuando tienen el mayor contenido en humedad.
- Flujo contracorriente. El material se atomiza en dirección opuesta al flujo de aire caliente. En este caso el aire caliente va hacia arriba y el producto cae aumentando mucho su temperatura y eliminando la humedad residual. El método solo es válido para compuestos termoestables.
- Flujo combinado. Se combinan las ventajas de ambos métodos de atomización. El producto se atomiza hacia arriba y solo permanece en la zona de aire caliente por un tiempo corto para eliminar la humedad residual. Entonces la gravedad lleva al producto a la zona más fría.

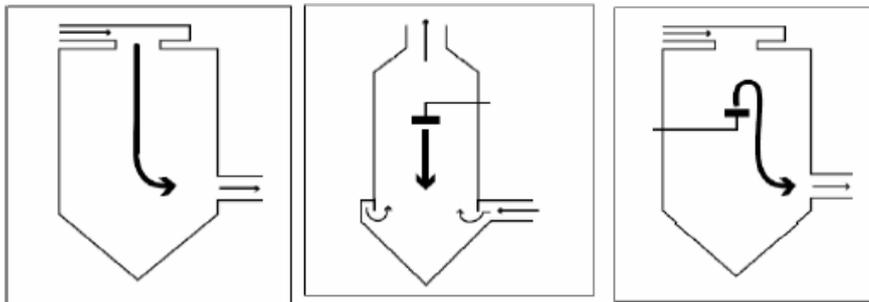


Figura 10: Tipos de flujo. Por orden: flujo co-corriente, contracorriente y combinado.

c) Separación del producto seco del aire de salida

En esta fase se produce el paso de las partículas y el aire que las acompaña a través de un compartimiento con una forma característica denominado ciclón o venturi (figura 11).

Dentro del ciclón la fuerza centrífuga se utiliza para mover las partículas hacia la pared y para separarlas del aire alrededor del eje. El aire y las partículas avanzan formando una espiral hacia abajo del venturi. De acuerdo con las fuerzas de inercia las partículas se separan del aire al chocar con la pared del ciclón. Estos ciclones tienen un vaso de recogida en su parte inferior que recibe las partículas. Por la parte superior del ciclón sale el flujo de aire limpio que ya no contiene partículas de producto siguiendo un sentido ascendente.

Dos características se utilizan para definir el funcionamiento del ciclón. Son el diámetro crítico de la partícula (tamaño de partícula que se separa totalmente de la corriente del aire) y el diámetro de la partícula para el cual se alcanza 50% de eficiencia. La separación de partículas se realiza en el rango de 5 a 100 micras.

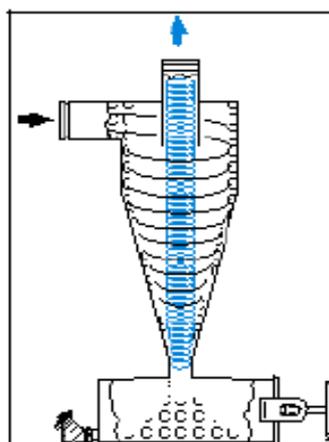


Figura 11: Esquema de un ciclón utilizado para la separación de partículas.

1.2.4. Principales variables del proceso de secado por atomización

- **Caudal del líquido de entrada.** El caudal de entrada del líquido a atomizar al equipo de atomización se regula por medio de una bomba peristáltica, en el caso de una boquilla de dos fluidos. El equipo utilizado en la experimentación utiliza como escala de medida el porcentaje de funcionamiento máximo de la bomba. Este caudal afecta a la atomización.
- **Caudal de aire de atomización.** Este aire es suministrado por un compresor y el caudal se regula atendiendo a la lectura de un rotámetro que nos indicará el caudal de aire utilizado para el atomizado. Este caudal de aire lo utiliza una boquilla de dos flujos y afecta a la atomización.
- **Temperatura y humedad del aire de entrada al cilindro de atomización (T_{inlet}).** Esta temperatura se puede controlar mediante la resistencia eléctrica del equipo.
- **Caudal de aire de secado.** El caudal de aire de secado indica el aire que entra en el cilindro de pulverización para realizar el secado. El caudal real depende de la pérdida de presión del conjunto del sistema.

Todas las condiciones anteriores van a influir sin lugar a dudas en las características del producto en polvo obtenido:

- Humedad final del polvo
- Rendimiento de producción
- Temperatura de salida
- Tamaño de partícula

La optimización de estos parámetros se hace generalmente por un proceso de “ensayo y error”, si bien es posible predecir la influencia de cada una de estas variables de manera individual. La influencia de cada una de estas variables en el secado por atomización se presentan en la tabla 2 (Masters, 2002).

Tabla 2: Influencia de las variables del secado por atomización.

Parámetro/ Dependencia	Caudal de aire de atomización	Caudal de líquido de entrada	Concentración de solutos a atomizar	Caudal del aire de secado	Humedad del aire de entrada	Temperatura entrada
Humedad final del producto	No afecta	Mayor humedad pues más agua conduce a una P.parcial más alta	Menor humedad pues habrá menos agua para evaporar, menor P.parcial	Mayor humedad pues baja la P. parcial del agua evaporada	Mayor humedad del producto pues hay una P.parcial más alta del aire de secado	Menor humedad por menor humedad relativa del aire de entrada
Rendimiento de producción	No afecta	Depende de la aplicación	Mayor pues partículas más grandes conducen a una mejor separación	Mayor rendimiento en la separación del ciclón	Menor η , pues más humedad puede conducir al pegado del producto	Mayor η , pues se evita la eventual pegajosidad
Temperatura de salida	Más cantidad de aire fresco que tiene que calentarse	Menor temp. pues se evapora más cantidad de agua	Mayor temp. pues es menor la cantidad de agua evaporada	Mayor temp. pues hay menos pérdidas de calor basadas en la entrada total de energía	Mayor temp. pues hay más energía almacenada en humedad	Mayor temp. de salida pues hay una proporción directa
Tamaño de partícula	Disminuye el tamaño pues aumenta la energía para la dispersión del fluido	Mayores partículas pues hay mayor cantidad de fluido a dispersar	Mayor tamaño de las partículas secadas pues hay más producto	No afecta	No afecta	No afecta

1.3. Microencapsulación de zumos mediante secado por atomización

1.3.1. Los zumos y su microencapsulación

El secado por atomización de los zumos de frutas es una operación de proceso en un solo paso que transforma los zumos en un producto en polvo. La formulación en polvo facilita el transporte al reducir el peso, y también preserva el producto de la degradación bacteriana al disminuir drásticamente la actividad del agua.

Los zumos presentan por naturaleza un elevado contenido de azúcares como glucosa y fructosa y ácidos orgánicos como ácido cítrico, málico y tartárico, lo que les confiere una característica diferencial a la hora de conseguir que un zumo por eliminación de su contenido en agua se transforme en una presentación en polvo.

Estos compuestos tienen temperaturas de transición vítrea bajas y ya sea con los secadores por atomización utilizados en la industria alimentaria para transformar disoluciones, emulsiones o dispersiones de un producto (estado líquido) en productos en polvo, o bien con el uso de liofilizadores, nos encontramos con los problemas de pegajosidad (stickiness) y de elevada higroscopicidad con los productos obtenidos. El término “stickiness” hace referencia a los fenómenos de cohesión partícula-partícula y de adhesión partícula-pared que presentan los polvos obtenidos, que dificulta su presentación en estado polvo y mancha las paredes de los cilindros de pulverización (Dolinsky et al., 2000). Al quedar en la pared del compartimento de secado como un jarabe da lugar a bajas producciones del producto y a problemas operacionales. La cohesión es una propiedad interna del polvo y una medida de las fuerzas que mantienen unidas las partículas, mientras que la adhesión es una propiedad interfacial y una medida de las fuerzas que mantienen las partículas unidas a otro material.

La mayor causa de la pegajosidad en polvos amorfos de zumos es la acción plastificante del agua en la superficie, que da lugar a la adhesión y cohesión (Boonyai et al., 2004).

Este fenómeno depende no solo de las propiedades de los materiales sino también de las condiciones aplicadas en el secado. La evaporación rápida en el secado por atomización produce partículas en estado amorfo que presentan una temperatura de transición vítrea (T_g) baja. T_g es una medida de un fenómeno de transición de fase, donde un material pseudo- líquido pegajoso (gomoso) se transforma en un material pseudo-sólido en estado vítreo.

La transición ocurre a lo largo de un rango de temperaturas entre la temperatura de transición vítrea inicial ($T_{g \text{ onset}}$) y la final ($T_{g \text{ endset}}$). Este intervalo varía entre 10 y 30 °C. Imaginemos un material pseudo-líquido (pegajoso) que se está moviendo hacia el estado pseudo-sólido vítreo (no pegajoso). Cuando la temperatura en la superficie de una gota atomizada (T_d) es mucho mayor que la T_g , esta gota presenta una fuerza cohesiva baja (fluidez alta) comparada con la fuerza adhesiva en la interfase gota-equipo. Cuando la temperatura está cercana a la T_g final la fuerza cohesiva del material aumentará sustancialmente debido a la menor fluidez. Cuando la temperatura del material cae por debajo de la temperatura vítrea inicial se completa la transición y se obtiene un material vítreo. Puesto que la transición vítrea ocurre en un rango de temperatura, es necesaria una escala de tiempo para completar el proceso. Resulta razonable establecer una temperatura de compensación que ofrezca una escala de tiempo suficientemente larga que permita la transición. Un valor de 10 °C de compensación de temperatura permite un tiempo suficiente para conseguir un estado seguro de no adhesión.

El alto contenido en azúcares de bajo peso molecular y ácidos orgánicos disminuye la temperatura de transición vítrea (T_g) por debajo de la temperatura de preparación del producto, incluso a la temperatura de salida del secado. Esto conlleva a la existencia de un estado pseudo-líquido de material amorfo, que es responsable de la cohesión interpartículas y de la adhesión de las partículas a las paredes del cilindro

de atomización. Cuanto mayor sea esta diferencia de temperatura ($\Delta T = T_p - T_g$) mayor será el grado de pegajosidad.

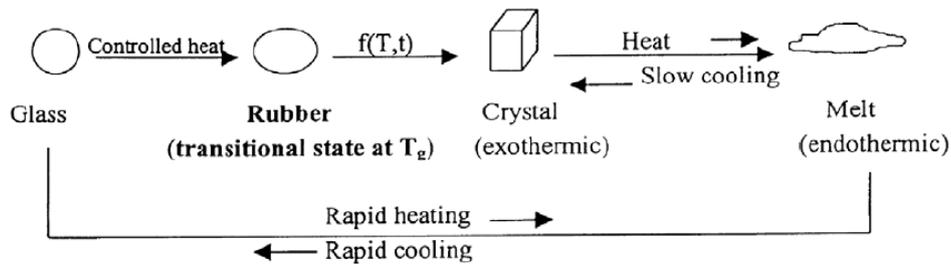


Figura 12: Esquema de la transición vítrea.

Una solución a este problema de pegajosidad es el uso de cilindros de pulverización de doble pared o el uso de aire seco para enfriar. Otra solución al problema es la utilización de productos ayudantes de secado. Estos ayudantes de secado son productos envolventes o encapsuladores que mezclados con la muestra líquida evitan la pegajosidad y aglomeración del producto obtenido.

Los encapsulantes comunes utilizados en la industria incluyen los carbohidratos, las gomas y los esteres de celulosa. Los ayudantes de secado más ampliamente utilizados para obtener polvos del zumo de fruta son productos de almidón parcialmente hidrolizados. Estos polímeros de la D-glucosa tienen un sabor neutro, color blanco, carecen de olor, son fácilmente digeridos y son bien tolerados. Se clasifican generalmente según su grado de hidrólisis, expresado como equivalente de dextrosa (DE). Las maltodextrinas tienen un DE de menos de 20, según la agencia alimentaria de los Estados Unidos, mientras que los polímeros de glúcidos con DE mayores de 20 se consideran como jarabes de glucosa.

Aún cuando se ha investigado mucho sobre el proceso de secado por atomización, todavía sigue siendo un proceso con algunas incertidumbres y

dificultades. Una razón es la alta influencia en el comportamiento de secado de las características de los materiales y otro es la compleja dinámica de fluidos en el secador por atomización.

La formulación en polvo está ampliamente extendida en el campo de la alimentación. Podemos encontrar una amplia gama de productos alimenticios en polvo, algunos de ellos podrían ser café soluble, cacao, papillas para bebés, queso, leche, pigmentos y muchos más. El secado por atomización se utiliza también para secar productos químicos-farmacéuticos, latex, caucho, polvos de cerámica, detergentes y otros productos (Mujumdar, 1995).

Tabla 3: Tamaños de partícula obtenidos mediante secado por atomización

Producto	Tamaño
Leche	30-250 μm
Café	80-400 μm
Pigmentos	10-200 μm
Productos farmacéuticos	5-50 μm
Otros productos químicos	10-1000 μm

Obtener zumos en polvo es muy atractivo desde el punto de vista industrial, es un sector con gran proyección, encontrándose muchas aplicaciones tanto en el sector de la alimentación como en el de productos nutraceúticos y de cosmética. Entre las industrias que comercializan zumos en polvo podemos destacar a DIANA NATURAL (Antrain, Francia). Esta empresa está especializada en obtener frutas y vegetales en polvo para su uso en golosinas, yogures, bebidas funcionales, bebidas instantáneas...

El grupo empresarial Agraza (Badajoz, España), cuenta entre sus productos más destacados con el tomate en polvo.

En la figura 13 se muestran fotografías de algunos de los productos ofrecidos por estas empresas.



Figura 13: Algunos productos de microencapsulación comerciales.

1.3.2. Microencapsulación del zumo de granada

A) Zumo de granada

Origen de la granada

Se sabe que el granado era cultivado en tiempos muy remotos porque se han encontrado indicios del consumo de esta fruta en tumbas egipcias de 2.500 años antes de la era cristiana. Se cree que los cartagineses introdujeron el granado en la región mediterránea a raíz de las guerras Púnicas, de ahí su nombre “Punica granatum”.

La granada es una fruta arbustiva oriunda de los países del este de Europa (Costa Dálmata y Grecia) y Oriente (Palestina, Irán, Afganistán, Paquistán).

Actualmente, su cultivo está extendido por diversos países de Europa, Asia y América, siendo destacable en países como Afganistán e Irán, con variedades especialmente perfumadas y sabrosas, Israel, Brasil y California (www.consumer.es).

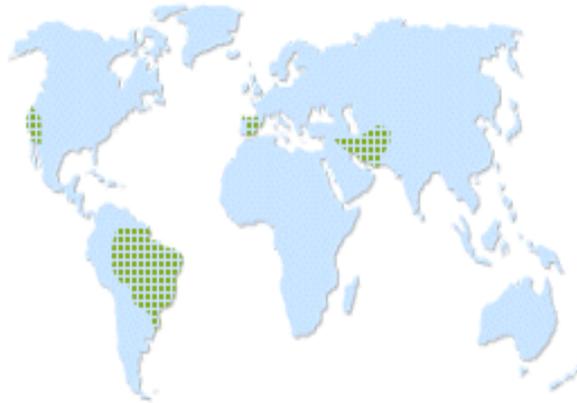


Figura 14: Distribución geográfica mundial del cultivo (www.consumer.es).

España es uno de los principales productores del mundo y el mayor exportador europeo, en la parte sur de España la granada resulta ser una de las alternativas de explotación de la agricultura frente a los problemas actuales de desertificación, ya que estos árboles están adaptados a la salinidad y los suelos pobres de climas semiáridos. La superficie actual de granado en España supera las 2.500 hectáreas, con una producción próxima a las 20.000 toneladas. Las variedades más producidas en España, sobre todo en Andalucía y la zona levantina (Alicante y Murcia) son: Grano Elche, que madura entre octubre y noviembre, y Mollar de Játiva o Mollar de Valencia, de recolección más temprana, con unos precios de venta generalmente más elevados, debido a la escasez de producto en la época de recolección.

Aunque las granadas empiezan a aparecer en los mercados a mediados de septiembre, es entrado el otoño cuando esta fruta nos ofrece sus granos en toda su plenitud, y se mantiene hasta finales de enero.

La granada se debe de recolectar justo antes de que madure completamente, si no es así, el fruto explota en el árbol, a la vez se debe decir que tampoco madura después de caer del árbol, por eso se debe recolectar totalmente madura, para poder mostrar sus características organolépticas óptimas. El grosor de su piel hace posible almacenarlas durante meses y que resista bien el transporte.

Descripción de la granada

La granada es una infrutescencia, fruto de un árbol llamado granado que alcanza hasta 4 m de altura, de la familia de las Punicáceas; pequeña familia de árboles y arbustos, cuyos frutos tienen semillas prismáticas y rugosas.

La fruta posee una piel gruesa de color escarlata o dorada con tono carmesí en el exterior y una gran cantidad de semillas internas rodeadas de una jugosa pulpa de color rubí. En oriente es considerada como un símbolo del amor y de la fecundidad.



Figura 15: Fotografía de la granada y sus granos.

A continuación se describen las características de la granada (www.consumer.es).

- Forma: es una baya denominada balausta, de forma redonda.
- Tamaño y peso: su diámetro oscila entre los 70-90 mm o más.
- Color: desde el rojo brillante al verde amarillento, pasando por el blancuzco.

- Sabor: el interior de la granada está dividido por medio de una membrana blanquecina donde cada receptáculo alberga numerosas semillas de color rosa o rojo de sabor agridulce que recuerda ligeramente al de las grosellas.

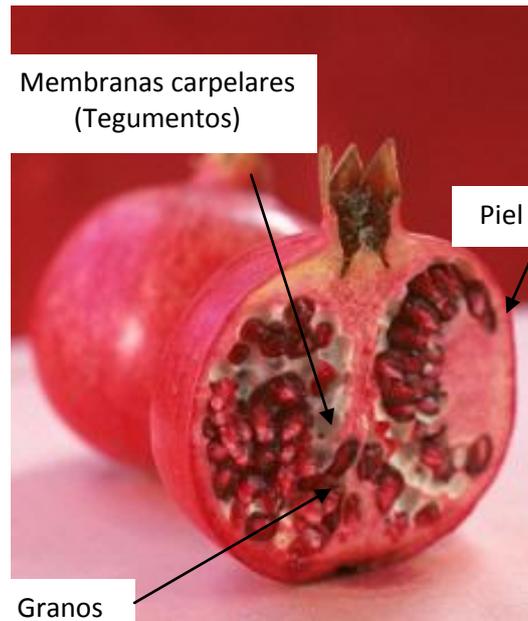


Figura 16: Partes de la granada.

Componentes de la granada

El componente mayoritario de la granada es el agua, pero además ofrece un excelente valor nutritivo por el aporte de potasio en la dieta. Aunque desde el punto de vista de los beneficios a la salud, destaca su contenido en ácido cítrico, málico, flavonoides y taninos.

- Azúcares y ácidos orgánicos

La parte comestible de la granada contiene cantidades considerables de azúcares, vitaminas, polisacáridos, polifenoles y minerales.

La granada contiene distintos ácidos como son el cítrico, málico, oxálico, acético, fumárico, tartárico y láctico, si bien los ácidos láctico y fumárico no son cuantificables. El ácido cítrico es el ácido más predominante en esta fruta, seguido muy de cerca por el málico (Melgarejo et col., 2000).

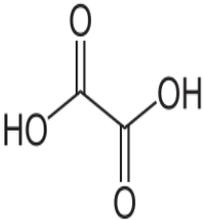
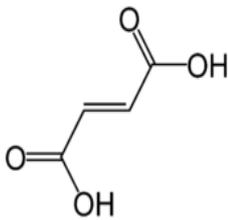
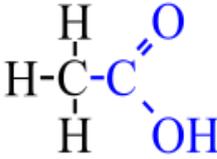
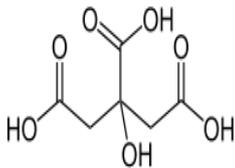
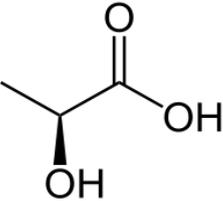
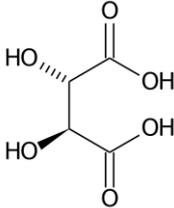
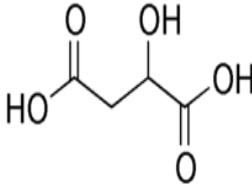
Ácido Oxálico	Acido Fumárico	Ácido Acético	Ácido cítrico
			
Ácido Láctico	Acido Tartárico	Ácido Málico	
			

Figura 17: Estructura química de los distintos ácidos de la granada.

En cuanto a los azúcares contenidos en la granada son la glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa, esta última no es cuantificable. De acuerdo con las características organolépticas y composición química se establecen tres grupos de variedades de granada: dulce, agridulce y agrio.

La variedad denominada “agrio” muestra el menor contenido en fructosa y glucosa, en general baja cantidad de azúcares totales, pero alto contenido en ácidos. Por otra parte la variedad “agridulce” tiene altos niveles de azúcares, al igual que la dulce. La diferencia entre estas últimas se debe al mayor contenido en ácidos orgánicos de la agridulce. Paralelamente, los niveles de fructosa son similares en las variedades dulce y agridulce, siendo en ambas su contenido mayor que en la variedad

agrio. La maltosa sólo aparece en forma de trazas. Como conclusión podemos destacar que las diferencias relativas entre las proporciones de los ácidos orgánicos están relacionadas con la dulzura del zumo.

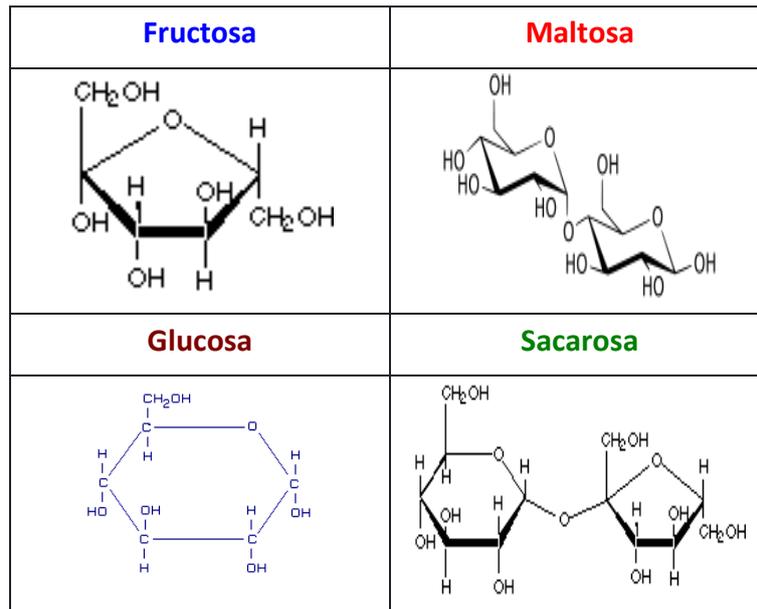


Figura 18: Estructura química de los distintos azúcares de la granada.

- **Polifenoles**

Varios estudios epidemiológicos muestran que el consumo de frutas y vegetales con alta cantidad de fenoles pueden reducir las enfermedades cardiovasculares y la mortalidad debida al cáncer (Hertog et al. 1997).

Los compuestos fenólicos producen estos efectos beneficiosos porque neutralizan los radicales libres, causantes del daño oxidante, tal es su importancia que en la actualidad la granada muestra tanto interés debido a su importante acción biológica. Así podemos hablar de la importante actividad antioxidante y antitumoral de los taninos de la corteza de la granada.

Generalmente todos los vegetales, como producto de su metabolismo secundario, son capaces de biosintetizar estos compuestos de estructura polifenólica (varios grupos hidroxilo de anillos aromáticos). Se han identificado varios cientos de esta moléculas en plantas comestibles (Mabach et al., 2004).

La estructura fenólica se compone de un núcleo aromático que contiene un grupo hidroxílico libre y se diferencian de otros compuestos porque poseen una estructura fenólica de origen biosintético.

Estos compuestos pueden clasificarse en diferentes grupos en función del número de anillos fenólicos que contienen y de los elementos estructurales que unen unos anillos con otros (figura 19) (Manach et al., 2004). Se puede distinguir entre:

- Ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos)
- Flavonoides
- Estilbenos
- Lignan

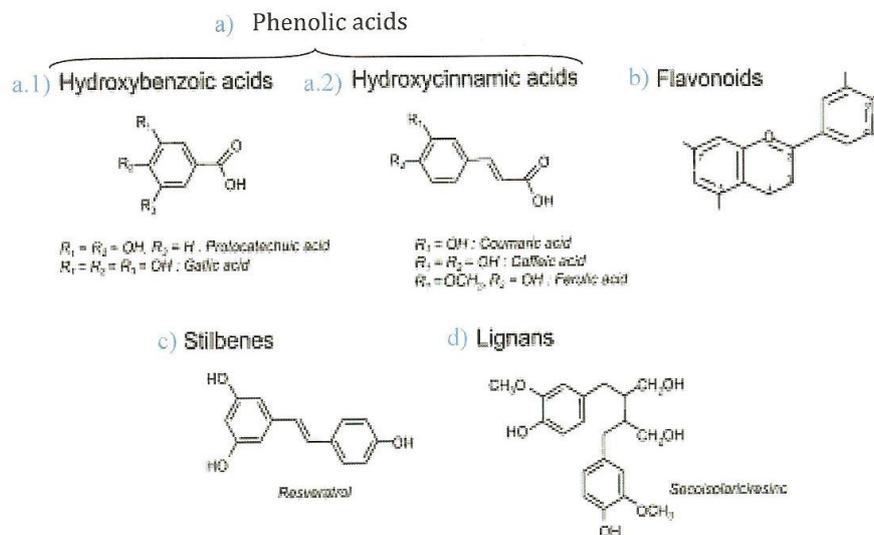


Figura 19: Estructura química de los polifenoles (Manach et al., 2004).

En el secado por atomización del zumo de granada, nos centraremos en el análisis y estudio de los ácidos fenólicos y los flavonoides, ya que estos son los que están presentes en la granada.

- Ácidos fenólicos

Se pueden distinguir dos grandes clases de ácidos fenólicos, los derivados del ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico. Estos últimos no están presentes en la granada, por lo que no los citaremos en el estudio del secado por atomización de zumo de granada.

En cuanto a los ácidos hidrobenczoicos, éstos son un grupo de compuestos abundantes en la naturaleza. Su contenido en plantas comestibles es generalmente bajo, con la excepción de ciertas frutas rojas, las cebollas o el rábano negro (Manach et al., 2004).

Estructuralmente están formados básicamente por un anillo aromático unido a un grupo carboxílico.

Los ácidos hidroxibenzoicos presentes en la granada son los taninos hidrolizables, elagitaninas, ácido gálico y ácido elágico, este último formado por la condensación de dos moléculas de ácido gálico.

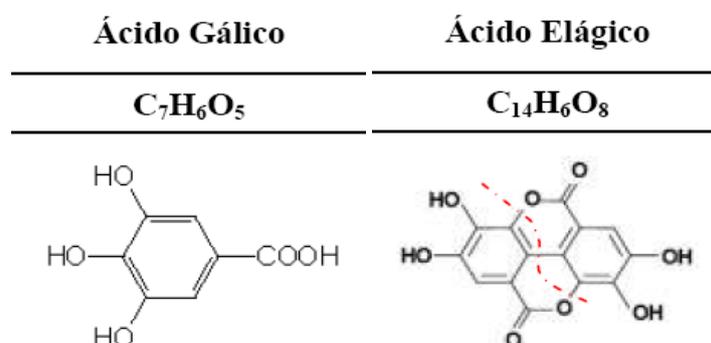


Figura 20: Estructura química de los ácidos elágico y gálico.

- Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de moléculas generadas por el metabolismo secundario de los vegetales que, como otros principios activos vegetales, se originan mediante una ruta biosintética mixta. Son compuestos fenólicos diaril-propánicos, es decir, su estructura es del tipo C₆-C₃-C₆, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 átomos de carbono que forman un anillo heterocíclico oxigenado.

Los flavonoides se clasifican a partir de sus variaciones estructurales y pueden dividirse en flavonas, flavanonas, flavonoles, isoflavonas, flavonoles (catequinas y proantocianidinas) y antocianinas.

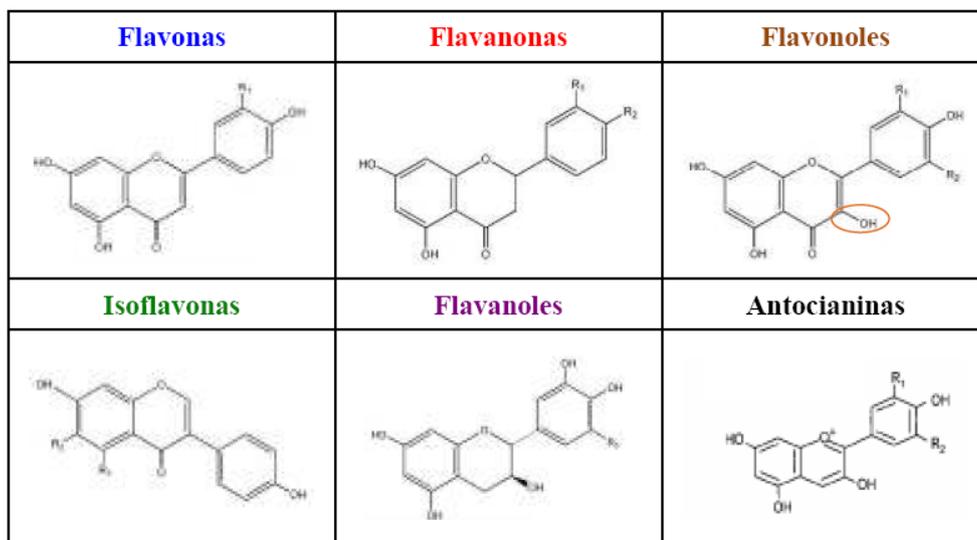


Figura 21: Estructura química de los flavonoides.

La granada es una de las frutas más ricas en antocianinas, estas son pigmentos solubles en agua, provenientes de los derivados glicosilados del catión 3,5,7,4'-tetrahidroxi-flavilio.

Se trata de los pigmentos naturales responsables de la coloración que va desde el rojo-púrpura al azul. Las antocianinas son moléculas relativamente inestables y sus colores dependen del pH, temperatura, luz y de la presencia de metales. La acilación con ácidos cinámicos u otros ácidos similares confiere una estabilidad adicional a las antocianinas.

Se han desarrollado numerosos métodos para la caracterización de antocianinas, si bien el análisis por HPLC utilizando un detector de fotodiodos, es el método más extendido.

Según la bibliografía (Artés et col., 1999), la granada puede contener los antocianos pelargonidina, cianidina y delphinidina, los cuales pueden estar glicosilados en los carbonos 3 y 5: delphinidina 3-glucosido, delphinidina 3,5-diglucosido, cianidina 3-glucosido, cianidina 3,5 diglucosido, pelargonidina 3-glucosido y pelargonidina 3,5-diglucosido.

En las plantas se han aislado más de 250 antocianinas diferentes, siendo los glucósidos más estables que las agliconas libres (antocianidinas). Las agliconas de los antocianos más importantes (tabla 4 y figura 22) son seis:

E-163a (Cianidina): colorante alimentario rojo

E-163b (Delphinidina): colorante alimentario azul-rojo

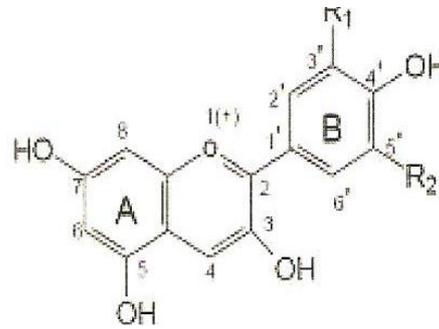
E-163c (Malvidina): colorante alimentario púrpura

E-163d (Pelargonidina): colorante alimentario anaranjado

E-163e (Peonidina): colorante alimentario rojo-marrón

E-163f (Petunidina): colorante alimentario rojo oscuro

AGLICONA	Substitución		λ_{max} (nm)
	R_1	R_2	<i>Espectro visible</i>
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvinidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)



Cianidina	Delfinidina	Pelargonidina

Tabla 4 y Figura 22: Estructura química de las antocianinas.

Conforme la granada va madurando, se observa un aumento de la pigmentación de su zumo. Este aumento en la pigmentación se debe a un aumento del contenido de antocianos. Artés et col. (1999) han estudiado la evolución del contenido en antocianos tras la recolecta y en su almacenamiento. En las primeras etapas el pigmento predominante es el delfinidina 3,5-diglucosido, seguido por cianidina 3,5 diglucosido, mientras que en las últimas etapas los pigmentos predominantes son sus derivados monoglicosilados, es decir, cianidina 3- glucosido y delfinidina 3-glucosido.

Los únicos antocianos que están presentes en pequeñas cantidades en todas las etapas son los derivados del pelargonidina. Estos, junto con los derivados del cianidina, son los únicos presentes en piel de la granada. En cuanto a la estabilidad, se sabe que los 3,5-diglucosidos son más estables que los monoglicosilados, mientras que los

derivados de definidina son menos estables (por su facilidad de oxidarse) que los derivados correspondientes de cianidina o de pelargonidina (Hernández et col., 1999).

Según la bibliografía (Hernández et col., 1999) el contenido de antocianos de las granada depende de la variedad estudiada: en los cultivos españoles de granada se encuentra un contenido de antocianos de 50-267 mg/Kg, mientras que se observa un contenido más bajo (6-120 mg/L) en los cultivos turcos. Se ha descrito un aumento de antocianos después del almacenamiento refrigerado (por encima de 350 mg/L).

Propiedades nutritivas

Nutritivamente hablando, la granada es muy rica en vitaminas A, B1, B2, B3, B9, C y E. De hecho, se afirma que un vaso de zumo de granada aporta el 100% de la dosis diaria recomendada de ácido fólico (B9) y la mitad de la de vitaminas A, C y E. También es fuente de fósforo, cloro, manganeso, silicio y zinc así como de calcio y magnesio, cobre e hierro (la presencia del primero ayuda a una mejor asimilación del segundo). Sin embargo, el mineral más abundante y apreciado de la granada es el potasio, necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular además de intervenir en el mantenimiento del necesario equilibrio de la trascendental bomba sodio-potasio, resultando recomendable para aquellas personas que sufren hipertensión arterial o afecciones de vasos sanguíneos y corazón.

La granada es además muy rica en fibra y de bajo valor calórico debido a su escaso contenido en hidratos de carbono, por lo que su consumo es apto para aquellos consumidores que siguen una dieta de adelgazamiento.

No obstante, su consumo debe ser controlado por aquellas personas con insuficiencia renal o sometidas a dietas con bajo contenido de potasio. Sin embargo, se recomienda su consumo a quienes toman diuréticos, que eliminan potasio, y a las personas con bulimia, debido a los episodios de vómitos autoinducidos que provocan grandes pérdidas de este mineral.

Tabla 5: Valor nutritivo de la granada (www.es.wikipedia.org).

Granada (Valor nutritivo por 100 g)			
Agua: 79-80 %	Mat. nitrogenadas: 1.2%	Mat.hidrocarbonada: 16%	
Fibras: 3-3.5g	Valor energético: 52-60 Kcal		
Proteínas: 1 g	Lípidos 0.5 g	Glúcidos: 13 g	Azúcares simples: 0 g
Sales minerales y oligoelementos			
Potasio: 250 mg	Fósforo: 22 mg	Calcio: 11 mg	Magnesio: 5 mg
Sodio: 5 mg	Hierro: 1 mg	Zinc: 200 µg	Cobre: 100 µg
Manganeso: 100 µg			
Vitaminas			
Vitamina C: 20mg	Vitamina B1: 30 µg	Vitamina B2: 20 µg	B3/Niacina: 20 µg
Vitamina B5: 50 µg	Vitamina B6: 10 µg	Vitamina B9: 0 µg	Vitamina B12: 0 µg
Vitamina A: 30 µg	Vitamina: 0 µg	Vitamina E: 0 µg	Vitamina K: 0 µg
Ácidos grasos			
Ácido saturado : 0 g	Ac. mono-insaturado : 0 g	Ac. poli-insaturado : 0 g	Colesterol : 0 mg

Sus efectos beneficiosos están relacionados con su alta actividad antioxidante, la cual se debe a la presencia de gran variedad de compuestos biológicamente activos. Contiene asimismo **ácido cítrico** (desinfectante, alcalinizador de la orina y potenciador de la acción de la vitamina C), **ácido málico**, **flavonoides** (pigmentos vegetales de acción antioxidante responsables del color rojizo de sus granos, captan radicales libres nocivos para el organismo) y **taninos** (sustancias extraordinariamente antioxidantes y con propiedades astringentes y antiinflamatorias de las mucosas del tracto digestivo).

Algunas de las acciones de los taninos son secar y desinflamar la mucosa intestinal (capa que tapiza el interior del conducto digestivo). La corteza (malicorium) y los tabiques internos son las partes del fruto que más cantidad de taninos presentan.

Por ello, el consumo de granada está indicado en caso de diarreas infecciosas, cólicos intestinales, flatulencia (exceso de gases) y estómago delicado. Los taninos se reconocen rápidamente por la sensación áspera que producen al paladar.

A continuación se detallan algunas de sus propiedades nutritivas (www.dsalud.com/alimentacion.htm).

- **Antioxidante**

Sus abundantes *flavonoides*, *taninos* y *vitaminas* la convierten en una de las frutas con mayores propiedades antioxidantes de la naturaleza. Por eso su consumo habitual previene el envejecimiento y contribuye a reducir el riesgo de padecer enfermedades degenerativas, cardiovasculares y cáncer.

- **Astringente, diurética y digestiva**

La granada ayuda a limpiar el organismo a la vez que está indicada para quienes sufren diarrea, colitis, flatulencia, mala digestión, ardor de estómago, gastroenteritis, acidez o hernia de hiato.

- **Depurativa.**

También se considera buena para el hígado ya que lo depura y fortalece. Los mismos efectos pueden producirse en la sangre ya que se ha comprobado que una cura prolongada con zumo de granada desintoxica y purifica la sangre regenerándola.

Además su elevado contenido en *agua*, *potasio* y *ácido cítrico* facilita la eliminación de líquidos y mejora la función de los riñones. Por eso es recomendable en casos de hiperuricemia, litiasis renal, obesidad o hipertensión.

- **Antiinflamatoria y antiséptica.**

La granada tiene también propiedades antiinflamatorias y antisépticas por su contenido en *ácidos cítrico y málico*, responsables de su agradable sabor acidulado.

El ácido cítrico favorece la eliminación de ácido úrico y sus sales a través de la orina, por lo que el consumo de granada es muy adecuado en caso de hiperuricemia o gota y litiasis renal por sales de ácido úrico.

Se ha constatado útil incluso para tratar inflamaciones crónicas que han resistido a los tratamientos convencionales y las que se producen en las mucosas digestivas. Y se ha mostrado eficaz igualmente en casos de faringitis, sinusitis crónicas y otitis.

- **Cardioprotectora.**

Investigaciones recientes han constatado que el zumo de granada reduce los niveles de colesterol malo en sangre y evita la formación de placas de ateroma en las paredes arteriales previniendo así su endurecimiento patológico. Además los azúcares del zumo de granada no modifican los niveles de glucemia de los diabéticos. En trabajos posteriores se demuestra que un vaso de zumo de granada tiene hasta tres veces más capacidad antioxidante y antiaterosclerótica que la misma cantidad de té verde, vino tinto o zumo de arándanos.

Queda decir que la granada protege el *óxido nítrico*, sustancia que se encuentra en pequeñas cantidades en el interior del cuerpo y que está involucrada en la relajación muscular y en la vasodilatación además de participar en la regulación del flujo y presión sanguínea lo que refuerza la certeza de que ayuda a prevenir los problemas cardiovasculares.

- **Neuroprotectora.**

En un estudio con ratones se comprobó que los *polifenoles* de la granada, consumida por las madres gestantes, protege el cerebro del feto frente a posibles lesiones hipóxicas-isquémicas en el momento del parto, en especial si se produce de forma prematura.

- **Antianémica.**

Su utilidad en casos de anemia se debe a su riqueza en minerales, especialmente en *hierro* y al hecho de que al contener también *vitamina C* y *cobre* se facilita la absorción del mismo.

- **Estrogénica.**

Se ha comprobado que la granada tiene efectos estrogénicos en ratones y de ahí que investigadores japoneses estén hoy evaluando los posibles efectos en el tratamiento de los síntomas que se asocian a la menopausia e, incluso, en la prevención de la osteoporosis.

- **Condroprotectora.**

El zumo de granada bloquea las enzimas que contribuyen a la degradación del cartílago en casos de osteoartritis, al menos en animales de laboratorio. Los trabajos continúan para intentar saber si además de prevenir esa degradación su consumo fomenta la reparación del cartílago.

- **Anticancerígena.**

Esta propiedad -contrastada por numerosos estudios- también se atribuye a la riqueza en antioxidantes de la granada. Así lo afirman, por ejemplo, los expertos de la *Universidad de Madison* (Estados Unidos) que ya en 2005 publicaron los resultados de varios trabajos en los que se había comprobado que la ingesta regular de zumo de

granada inhibe el crecimiento y desarrollo de células de cáncer de próstata. Por otra parte la *Universidad de Illinois* (Estados Unidos) ha evaluado en ratones la eficacia preventiva de la granada y los efectos anticancerígenos en casos de tumores mamarios. La investigación se ha extendido hoy a los melanomas.

En suma, los resultados en casos de cáncer son tan esperanzadores que cada vez más universidades y centros de investigación están analizando los distintos componentes y propiedades de esta excepcional fruta para ver si se puede prevenir o tratar con ella la enfermedad.

B) Técnicas de conservación y almacenaje de la granada

En los últimos años la investigación (Artés et col., 2000) se ha centrado en el desarrollo de nuevas técnicas de almacenamiento de la granada, para poder aumentar tanto su vida comercial, como su calidad. La vida comercial de los alimentos se define como el tiempo que la fruta puede estar almacenada bajo unas condiciones específicas manteniendo un nivel de calidad adecuado.

Hay muchos caminos para ampliar dicha vida comercial, entre ellos se plantea la reducción de los daños mecánicos (raspaduras, cortes, compresión) causados durante su manejo y almacenamiento, o la optimización de las condiciones ambientales. Por otra parte, los nuevos tratamientos plantean mantener la calidad original del zumo, evitando el desarrollo de hongos, la pérdida de la calidad de sus características (color, sabor y textura) y las propiedades nutricionales (vitaminas y antioxidantes). Estos tratamientos pueden modificar las condiciones ambientales de almacenaje y tener efectos en las propiedades fisiológicas de la fruta y sobre el desarrollo de microorganismos que contaminan la superficie de la fruta.

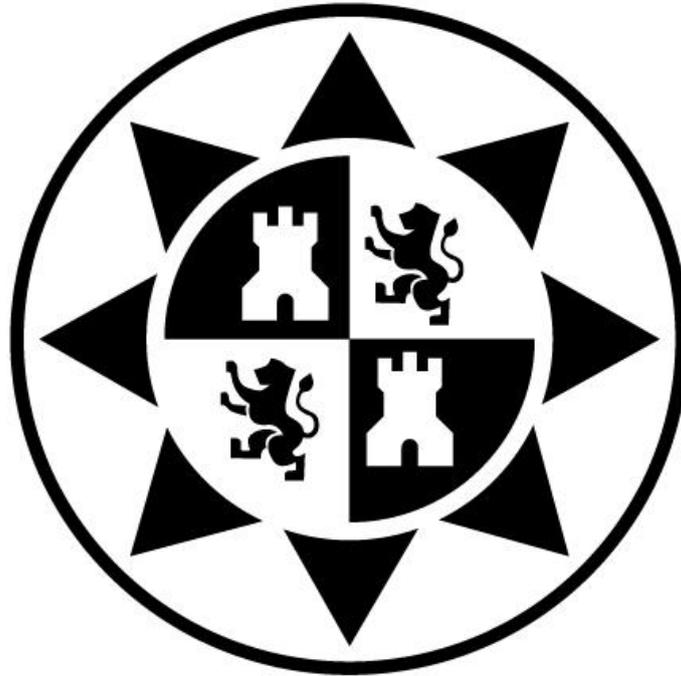
Si nos centramos en aumentar la vida comercial, el método más sencillo es una pre-refrigeración rápida. La temperatura utilizada para llevar a cabo el proceso es de 5°C, la cual previene la producción de desórdenes fisiológicos durante el almacenamiento de la granada. Mediante este método se puede prolongar la vida de almacenaje de esta fruta hasta tres meses, aún así, durante su almacenamiento pueden aparecer desórdenes enzimáticos o fisiológicos e incluso la granada puede sufrir el ataque de hongos. Todos estos efectos pueden afectar seriamente a la calidad del producto. En concreto, la categoría dulce española puede sufrir daños por frío si son almacenadas dos meses a temperaturas por debajo de 5 °C, daños que van desde el amarronamiento de la corteza, las picaduras y un aumento de la sensibilidad en el desarrollo de hongos. Es por lo que, se debe establecer la mínima temperatura segura para almacenar granada dulce en 10 °C (Kader et al., 1984), aunque esta temperatura no evita el desarrollo de hongos. Como consecuencia, deben utilizarse tratamientos intermitentes de calentamiento, ya que, además de prevenir los daños causados por el frío (aunque aumenta la susceptibilidad a sufrir daños por frío), previene el desarrollo de hongos. En este camino, nos encontramos con un método que aplica atmósferas con una composición distinta de la del aire. El almacenaje bajo atmósferas controladas reduce los daños por enfriamiento y la aparición de hongos, pero también reduce el contenido en azúcares y vitamina C, demostrándose que con el aire enriquecido al 10% de CO₂, la pigmentación de las semillas es menos intensa e incluso decrece en las frutas almacenada con aire al 20% de CO₂. Sin verificarse aún que el almacenaje con una composición de CO₂ del 10% prolongue la vida de almacenaje de las granadas y mantenga la calidad original del zumo.

La eliminación de la humedad de los alimentos es una técnica fácil que nos va a permitir prevenir el crecimiento y la reproducción de los microorganismos que causan la pérdida de calidad del producto, tal y como habíamos visto en las técnicas anteriores.

Para poder eliminar dicha humedad, es necesario elegir correctamente el proceso de secado, elección que depende de muchos factores como el volumen producido, el tipo de empresa, las propiedades del material... Generalmente los secadores comerciales están basados en aire caliente (secadores de convección).

En las condiciones de equilibrio, la actividad del agua es $a_w = \text{humedad relativa}/100$. Para una temperatura normal de crecimiento de bacterias, se requiere una actividad del agua en el rango 0.90-1.00 (Maskan, 2006). Durante el tiempo de secado la temperatura y la actividad del agua influyen en la calidad del producto final.

Así las bajas temperaturas tienen una influencia positiva en la calidad del producto, pero requieren largos tiempos de procesamiento, mientras que la baja actividad del agua retarda o elimina el crecimiento de microorganismos, por lo tanto, la estabilidad del almacenamiento de productos aumenta conforme la actividad del agua decrece.



Capítulo 2

Objetivos

2. Objetivos

La obtención de un zumo sólido presenta diversas ventajas frente a la formulación líquida, como: mayor estabilidad, mayor capacidad de transporte y dosificación.

El secado por atomización es la técnica que se utiliza para la obtención de los zumos en polvo (microencapsulados). En esta técnica intervienen muchas variables, entre las que podemos destacar las condiciones de atomización, la temperatura de entrada del aire, el caudal de secado, etc. Además, la pegajosidad de los zumos a secar puede hacer necesario la adición de compuestos que permitan la correcta formación del polvo, como son las maltodextrinas. Por otra parte, es sabido que la granada es una de las frutas de mayor poder antioxidante que se conocen, por lo que el secado de su zumo con esta técnica tiene un gran interés cara a su utilización como ingrediente que aporte propiedades funcionales. Si además se pueden reemplazar las maltodextrinas por otras sustancias bioactivas, como la nutriosa, el producto resultante tendrá unas propiedades funcionales aún mayores.

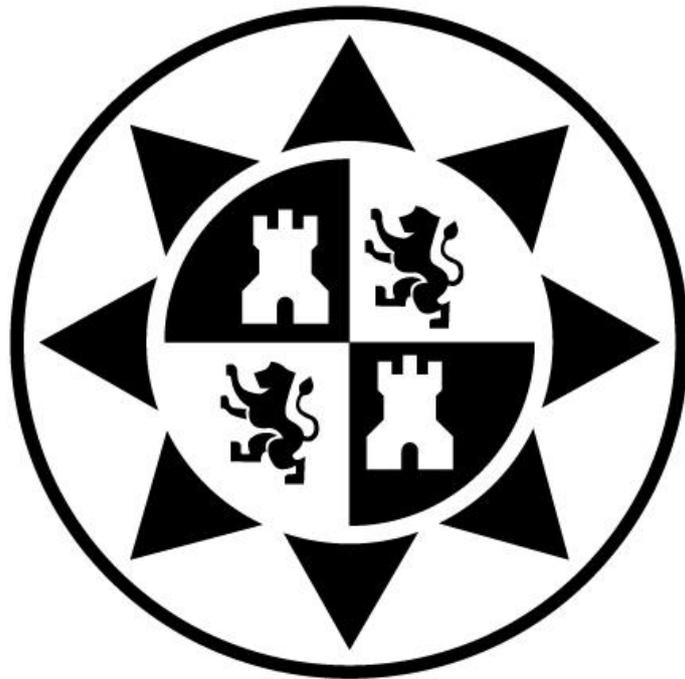
Todas estas incógnitas son las que se pretenden clarificar en este trabajo “Secado por Atomización del zumo de Granada”, así se pueden fijar varios objetivos, entre los que podemos citar los siguientes:

- Estudio de las mejores condiciones del proceso de secado por atomización de zumo de granada con un equipo a escala laboratorio (Büchi, B-290) utilizando para la atomización boquillas de dos vías.
- Obtención de microencapsulados a partir del concentrado comercial de zumo de granada y de diferentes agentes encapsulantes.

Así, se comparará la eficiencia del secado por atomización con maltodextrina y con nutriosa, agente encapsulante con interesantes propiedades funcionales.

- Búsqueda de las condiciones óptimas de secado por atomización seleccionando la atomización del inyector de doble fluido (caudal de aire de atomización y caudal de alimentación), la temperatura del aire de entrada y el caudal de aspiración.
- Conocer las proporciones de zumo y encapsulante óptimas que posibilitan el secado por atomización, evitando los problemas de pegajosidad. El objetivo será utilizar la menor concentración de agente encapsulante para minimizar su efecto en las propiedades organolépticas del zumo en polvo, y también abaratar costes.
- Caracterización del producto seco obtenido, analizando sus propiedades químicas y físicas.

El análisis fisicoquímico del producto seco obtenido consiste en el estudio de su higroscopicidad y en el análisis de antocianos, fenoles totales, y capacidad antioxidante, tanto en el polvo como en el concentrado original, permitiendo así determinar si la temperatura de secado afecta a la estabilidad de los compuestos funcionales presentes en el zumo de granada.



Capítulo 3

Materiales y métodos

3. Materiales y Métodos de trabajo

3.1. Reactivos

Para poder llevar a cabo la microencapsulación del zumo de granada fueron necesarios los siguientes reactivos:

- Maltodextrina: Glucidex 6DE (Roquette Laisa, Valencia, España). Son sacáridos nutritivos producidos a partir del almidón.
- Nutriosa: fibras solubles dietéticas obtenidas del trigo o del maíz (Beneo-Orafti, Valencia, España).
- Beneo P95: Oligofructosa > 93%, glucosa + fructosa + sacarosa < 7% (Beneo-Orafti, Valencia, España). Se obtiene por hidrólisis de inulina de achicoria.
- Actiligth: Oligofructosa > 95%, glucosa + fructosa + sucrosa 5%; (Bejhin-Meiji Industries, Japon). Se obtiene por biosíntesis a partir de sacarosa.
- Zumo concentrado clarificado de granada: compuesto por zumo concentrado de granada y zumo concentrado de limón (1-2%), con un contenido en sólidos solubles de 64 °Brix; (Moleva S.A, España). Almacenado a -20 °C en los congeladores del departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la UPCT. Para su análisis, unos 30 min antes, se sacan del congelador y se dejan descongelar completamente a temperatura ambiente.
- Polvo comercial de zumo de granada (Poudre de jus de Grenade): suministrado por Diana Naturals (Antrain, Francia).

Se ha aplicado la técnica de cromatografía líquida de alta resolución, para lo cual se han utilizado las siguientes fases móviles:

- Acetonitrilo para HPLC, de los laboratorios POCH S.A. (Polonia).
- Ácido Fórmico, 98-100%, de los laboratorios Sigma-Aldrich (Alemania).
- Agua purificada en un sistema de purificación de agua Mili-Q de Milipore (Bedford, MA, USA).

Se han realizado determinaciones de fenoles totales, para lo que se han necesitado los siguientes reactivos:

- Reactivo del fenol según Folin-Ciocalteu: marca Merck (Germany).
- Ácido Gálico: con una pureza > 98%; (Fluka, Madrid, España).

Además, se han realizado determinaciones de actividad antioxidante del zumo y del polvo de granada, utilizándose los reactivos que se indican a continuación:

- ABTS: 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma-Aldrich (Madrid, España). Pureza>99%.
- Peroxidasa: Sigma-Aldrich (Madrid, España).
- Trolox: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, proporcionado por Sigma-Aldrich. Pureza>97%.
- H₂O₂: Peróxido de hidrógeno 33% W/v. Suministrado por Panreac Química. (Barcelona, España).

Las determinaciones de contenido en antocianos y de actividad antioxidante se han realizado en condiciones de pH controlado, utilizándose disoluciones tampón de

pH= 1.0, 4.5, 5.0 y 7.0. Para prepararlas, se ha partido de las siguientes disoluciones madre, que se han mezclado en las proporciones que se indican en la tabla 6.

- Acido Clorhídrico al 37%: Panreac Química (Barcelona, España).
- KCl: Panreac Química (Barcelona, España).
- Acetato sódico trihidratado: Panreac Química (Barcelona, España).
- Ácido cítrico: acido cítrico hidratado, Panreac Química (Barcelona, España).
- Fosfato sódico dibásico: en el laboratorio no se disponía de este reactivo, por lo que se sustituye por fosfato potásico dibásico, de la marca Hopkin and William (Inglaterra).

Tabla 6: Proporciones correspondientes a las disoluciones tampón.

Buffer	Reactivos		
pH 1.0	125 mL KCl 0.2M	335 mL HCl 0.2 M	
pH 4.5	400 mL acetato sódico 1 M	240 mL HCl 1M	360 mL agua destilada
pH 5.0	24.3 mL ácido cítrico 0.1 M	25.7 mL fosfato sódico dibásico 0.2 M	
pH 7.0	6.5 mL ácido cítrico 0.1 M	43.6 mL fosfato sódico dibásico 0.2 M	

3.2. Preparación de las muestras para el secado por atomización

En el secado por atomización del zumo de granada es necesario preparar disoluciones de zumo de granada y disoluciones de distintos agentes encapsulantes; variando la relación agente encapsulante/zumo de granada, tipo de agente

encapsulante y grado de dilución. Las disoluciones preparadas por separado se mezclan y se procede a su agitación mediante un núcleo magnético. Tal y como ilustra la figura 23.



Figura 23: Esquema de preparación de las muestras para el proceso de secado.

3.3. Operación y puesta en marcha del secador por atomización

El equipo a escala laboratorio utilizado para secar mediante atomización las muestras líquidas anteriores es un Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Suiza), como el que se ilustra en la figura 24.



Figura 24: Mini Spray Dryer Büchi 290.

El Spray Dryer B-290 funciona en flujo en paralelo, es decir, el producto pulverizado y el aire seco se desplazan en el mismo sentido, obteniendo partículas en un rango que varía ente 1-25 μm .

Uno de los aspectos fundamentales del secado por atomización, es la dispersión de la muestra. Este equipo utiliza para la atomización una boquilla a presión de dos fluidos. El equipo consta de los siguientes componentes:

1. Boca de aspiración, en la cual se produce la entrada de aire.
2. Calefacción eléctrica, esta consta de una resistencia eléctrica, la cual permite calentar el aire de entrada.
3. Entrada de la corriente de aire estabilizada en la cámara de secado y boquilla de atomización.
4. Cámara de secado o cilindro de pulverización, la cual está encargada de recibir el producto atomizado procedente de la tobera o boquilla. En su parte más baja tiene un pequeño recogedor que recibe los sólidos más gruesos (partículas de mayor tamaño). El cilindro de pulverización sirve de enlace entre la entrada de producto atomizado y aire, y el ciclón. Tiene una altura de 50 cm y un diámetro de 15 cm.
5. Ciclón para separar el producto (polvo) de la corriente de aire.
6. Recipiente de recogida para el polvo seco.
7. Filtro de salida, el cual evita que el aire expulsado a la atmósfera contenga polvo, haciendo pasar la corriente de aire de salida por un filtro.

8. Aspirador, el cual genera la corriente de aire necesaria para el secado.

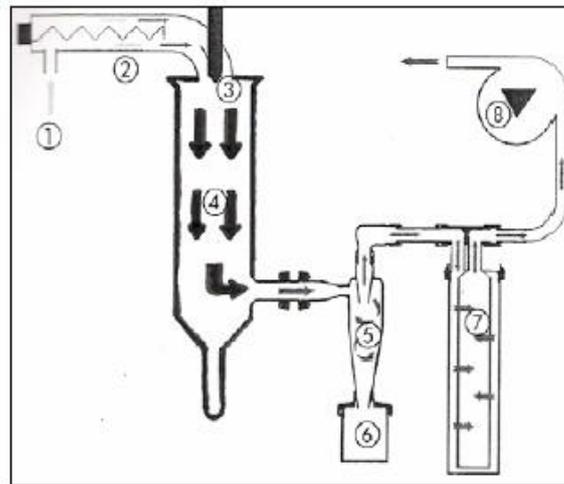


Figura 25: Esquema Mini Spray Dryer Buchi 290.

La puesta en marcha del secador por atomización es:

- Encender el interruptor general del equipo.
- Introducir la goma de silicona de la bomba peristáltica hasta el fondo de un vaso de precipitado con agua destilada. Comprobar que la goma está aprisionada por el rotor.



Figura 26: Vaso de precipitado y rotor.

- Ajustar la presión al valor seleccionado.



Figura 27: Manómetro que permite ajustar la presión.

- Poner en marcha la aspiración al valor seleccionado.
- Seleccionar la temperatura del aire de entrada y poner en marcha la calefacción.



Figura 28: Display.

- Esperar que se alcance la temperatura seleccionada.
- Encender el compresor que suministra el caudal de aire de atomización y seleccionar en el equipo con el rotámetro el caudal elegido.



Figura 29: Rotámetro.

- Ajustar el caudal de la bomba peristáltica de alimentación al valor preestablecido, y ponerla a continuación en marcha. Cuando el agua llegue a la tobera se iniciará la atomización.



Figura 30: Tobera de atomización.

- Observar la temperatura de salida y esperar a que se alcance un valor estable.
- Alcanzado el estado estacionario, cambiar la goma de silicona de la bomba peristáltica del vaso con agua al vaso de precipitado que contiene la muestra a secar. Comprobar previamente que su temperatura sea la ambiente (20 °C).



Figura 31: Muestra a atomizar.

- El proceso de atomización y secado se inicia, y el polvo comienza a aparecer en el recipiente de recogida.



Figura 32: Inicio de la atomización.

- Una vez que ha pasado toda la muestra a atomizar se cambia la goma de silicona de la bomba peristáltica al vaso de precipitado con agua destilada. Se esperan unos minutos hasta que se limpia la goma de silicona y la tobera de atomización, y se detiene la bomba de alimentación. Se apaga el compresor.
- Se desconecta la calefacción que calienta el aire de entrada, y se espera a que la temperatura del aire de salida sea de unos 30 °C.

- Se apaga la aspiración y se procede a abrir el recipiente de recogida de polvo. Con la ayuda de un pincel se recoge todo el polvo que se encuentra adherido en el interior del ciclón así como el situado en la tapa metálica de la parte inferior del ciclón.



Figura 33: Recipiente de recogida de polvo.

- El producto en polvo obtenido se recoge en placas petri, convenientemente etiquetadas, se pesa y se almacenan las placas en un desecador con gel de sílice anhidra a temperatura ambiente.



Figura 34: Producto en polvo obtenido.

En cada ensayo se anotan las observaciones correspondientes, indicando si ha habido algún tipo de condensación de agua o el grado de suciedad del cilindro de atomización.

Finalizado el experimento se desmonta el cilindro de atomización, el ciclón y el recipiente de recogida de polvo seco, limpiándose todo cuidadosamente, y quedando listo para el siguiente experimento.

3.4. Métodos de medida

Aparte de la microencapsulación del zumo de granada, en este trabajo se realizaran otra serie de ensayos a los microencapsulados del zumo de granada, para llevar a cabo los ensayos, se realizan las siguientes mediciones:

a) Medidas de sólidos solubles totales (°Brix)

La medida de sólidos solubles totales de los zumos se realiza con un refractómetro de ABBE, modelo 320-URA-Technic. El primer paso es su calibrado con agua, obteniendo así el cero de la escala. A continuación se coloca una pequeña cantidad de muestra líquida de concentrado en el campo del refractómetro y se lee sobre la escala (0 – 95°Brix).

b) Medidas de peso del producto en polvo (microencapsulados del zumo de granada) y rendimiento del proceso

Las muestras en polvo obtenidas tras el secado por atomización se almacenaron en placas petri dentro de desecador con gel de sílice anhidro. Para determinar su peso se utilizó una balanza electrónica Sartorius Bp 121 S que aprecia décimas de miligramo.

El rendimiento en peso obtenido tras el secado por atomización se calcula a partir del peso de polvo obtenido, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\eta_{\text{peso}} = \left(\frac{\text{gramos obtenidos}}{\text{gramos totales}} \right) * 100 \quad (1)$$

Gramos totales = g zumo seco + g agente encapsulante

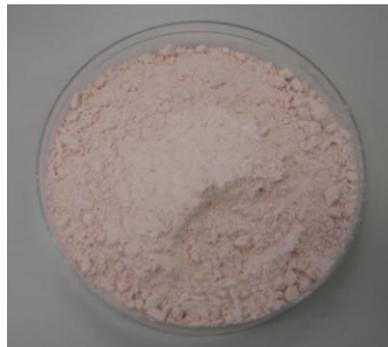


Figura 35: Microencapsulado del zumo de granada.

c) Análisis espectrofotométrico del zumo de granada

En el análisis espectrofotométrico del zumo de granada, el primer paso es la preparación de la muestra, para ello se pesa 1 g de polvo (microencapsulados del zumo de granada) o concentrado del zumo de granada y se prepara una disolución en agua de 25 mL.

El siguiente paso previo a la realización de un espectro en el espectrofotómetro (modelo 8453, Agilent, Alemania) es la realización de la línea base con agua destilada. Una vez realizada la línea base, se debe tener en cuenta que los barridos de absorbancia de las muestras se realizarán en el rango de longitudes de onda UV-visible entre 240 y 750 nm, por lo que se debe establecer este rango en el espectrofotómetro. Finalmente se realiza el espectro.

d) Medidas de la cantidad de antocianos

Para valorar si la cantidad de antocianos existentes en el zumo de granada ha disminuido tras el secado se realiza un análisis espectrofotométrico de los microencapsulados y del concentrado de partida.

La estructura conformacional de los antocianos experimenta cambios con el pH, de modo que los antocianos pueden ser considerados indicadores de pH. A pH= 1.0 están en la forma oxonio o flavinio, altamente coloreada, mientras que a pH= 4.5 están en la forma carbinol, cambiando el color a marrón. El procedimiento cuantitativo que vamos a utilizar está basado en este hecho.

Una alícuota de zumo de granada se ajusta a pH= 1.0 (disolviendo el concentrado en disolución tampón de pH= 1.0) y otra se ajusta a pH= 4.5. La diferencia de absorbancia (ΔA) en el máximo de absorción de los antocianos presentes (510 nm) proporcionará el contenido en éstos.

La muestra se ha de diluir hasta conseguir que la absorbancia de la alícuota de pH=1.0 a 520 nm sea inferior a 1, y preferiblemente quede en el rango de absorbancias de 0.4-0.6. Se ha de aplicar el mismo grado de dilución a los dos pH' s.

Las muestras han de estar claras. Para ello, previo a la determinación, se han de centrifugar. Si la muestra no tiene turbidez, su absorbancia a 700 nm debe ser cero. Para corregir la turbidez de la muestra podemos medir la absorbancia de ambas alícuotas a 700 nm, y restar ese valor de la medida a 520 nm.

A continuación se muestran los cálculos a realizar.

$$\Delta \text{Absorbancia} = (A_{510\text{nm}} \text{ pH } 1.0 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 1.0) - (A_{510\text{nm}} \text{ pH } 4.5 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 4.5) \quad (2)$$

$$C \text{ (mg/L)} = \Delta A / \epsilon L x M x 10^3 x D$$

Donde:

C (mg/L)= Concentración

ΔA = Incremento de absorbancia

ϵ = Absorbancia molar o absortividad molar

L = Longitud del recorrido de la celda (cm) del espectrofotómetro

M = Peso molecular

D = Factor de dilución



Figura 36: Disoluciones de los microencapsulados en Buffer pH 1.0 y pH 4.5.

e) Análisis totales de fenoles

Al igual que hacemos con los antocianos, también realizaremos análisis de fenoles totales en las muestras secadas, para determinar su permanencia tras el proceso de secado.

El análisis más utilizado para analizar los compuestos fenólicos es la reacción con el reactivo Folin- Ciocalteu.

La reacción entre los fenoles y el reactivo Folin-Ciocalteu produce la oxidación de los grupos fenólicos, con una mezcla de ácido fosfotungsténico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdénico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), a la forma quinona. La reducción simultánea del reactivo origina un color azul de la muestra que es proporcional al contenido fenólico total.

Para cuantificar el contenido de fenoles totales se ha de realizar una recta de calibrado con ácido gálico, de manera que la concentración de fenoles totales se expresará como g/L equivalentes de ácido gálico (GAE).

El procedimiento consiste en hacer reaccionar durante 8 min 0.5 mL de muestra con 2.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (preparado como dilución 1:10 en agua). Una vez producida la reacción se añaden 2 mL de Na_2CO_3 (75 g/L) y se incuba 5 min a 50 °C; el Na_2CO_3 nos va a permitir parar la reacción. El proceso se termina con el enfriamiento de las muestras.

A continuación se detallan las distintas disoluciones realizadas en función del tipo de muestra:

- Disoluciones con 0.5 g de polvo en 100 mL.
- Una disolución con 0.5 g de agente encapsulante en 100 mL.
- Disolución de 0.5 g de concentrado de granada en 250 mL.
- Un tubo con 0.5 mL de agua (blanco).
- Cinco tubos con 0.5 ml de ácido gálico de distintas concentraciones (10, 20, 30, 40, 50 ppm).



Figura 37: Dilución 1:10 en agua del reactivo Folin-Ciocalteu.

Una vez enfriadas las muestras, se inicia el análisis espectrofotométrico, para lo que se mide la absorbancia de éstas a una longitud de onda de 760 nm. A continuación se construye la recta de calibrado, representando absorbancia frente a concentración de ácido gálico y se determina la concentración de las muestras en equivalentes de ácido gálico.



Figura 38: Cambio de color producido al añadir el reactivo Folin-Ciocalteu.

f) Análisis de la actividad antioxidante

En los últimos años investigadores de todo el mundo han descubierto las excelentes propiedades de la granada mollar de Elche, determinando su

importantísima capacidad antioxidante y su significativa contribución en la dieta, así como su efecto en la prevención de diversas enfermedades tales como enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y neurológicas.

Estos polifenoles y tioles, también se encuentran en el ajo, arroz integral, café, coliflor, jengibre, perejil, cebolla, cítricos, tomates, té, romero, entre otras sustancias.

Los antocianos, tienen una estructura química adecuada para actuar como antioxidantes, pueden donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o bien atraparlos y desplazados en su estructura aromática.

Una actividad antioxidante óptima se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en la posiciones 3' y 4' del anillo "B", los cuales confieren una elevada estabilidad al radical formado. Los grupos hidroxilos libres en la posición 3 del anillo "C" y en la posición 5 del anillo "A", junto con el grupo carbonilo en la posición 4 son donadores de electrones (Kuskoski et col., 2004).

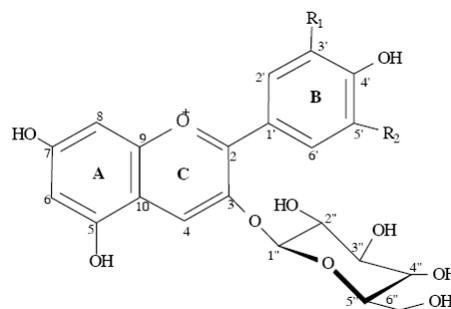
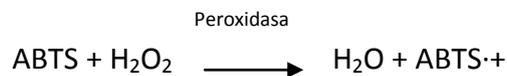


Figura 39: Estructura química de los antocianos.

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea in vitro o in vivo. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas in vitro de la capacidad antioxidante total de un compuesto, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical: la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones

de la capacidad antioxidante realizadas in vitro nos dan tan solo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas in vivo. Entre estos métodos podemos citar: método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), TOSC (Total Oxidant Scavenging Capacity), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) y TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Para evaluar la actividad antioxidante del zumo de granada hacemos uso del método TEAC (Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox), método que consiste en la reducción del catión $ABTS^{\cdot+}$ causada por la presencia de moléculas antioxidantes (Obón et col., 2005).



$ABTS^{\cdot+} + \text{antioxidante} \rightarrow \text{desaparición del color}$

Actualmente el método ABTS ha sido ampliamente usado tanto para materiales biológicos, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrofílica o lipílica. El compuesto cromógeno ABTS presenta color azul/verde con máximo de absorbancia en 342 nm, es muy soluble en agua y químicamente estable. El radical ABTS una vez generado por medio de enzimas o químicamente, pasa a presentar nuevas características con máximos de absorción a 414, 645, 734, y 815 nm.

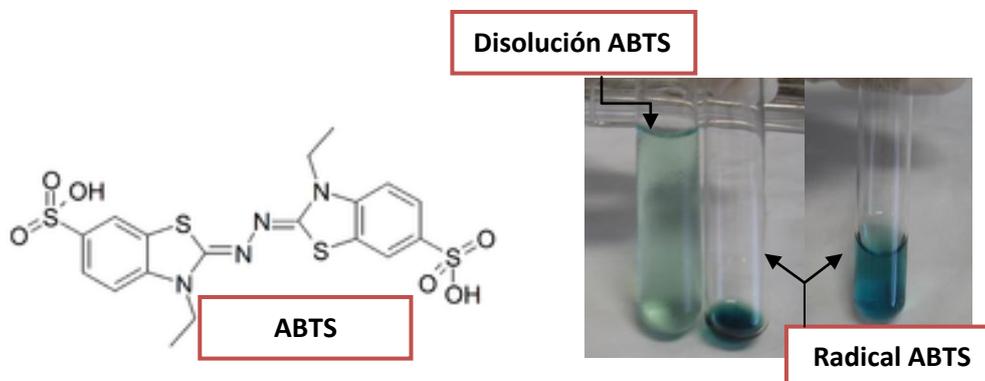


Figura 40: Izquierda: estructura química del ABTS.

Derecha: disolución de ABTS y radical generado.

El radical ABTS es más indicado para ensayos de compuestos coloreados, como en el caso de los antocianos, porque presentan el máximo de absorción próximo a la región infrarroja, reduciendo posibilidades de interferencias de compuestos coloreados que absorben en la región del visible o compuestos resultantes de reacciones secundarias (Kuskoski et col., 2004).

Para llevar a cabo este análisis se debe seguir el siguiente protocolo:

- Preparación de los tampones de fosfato-citrato de pH 5.0 y pH 7.0.
- Preparación de disoluciones stock:
 - Stock 5 mM de ABTS
 - Stock 2 mM de H₂O₂
 - Stock de peroxidasa (enzima) 3 μM
 - Stock de trolox 1mM

Todas las disoluciones se preparan con agua, excepto las correspondientes a la enzima y el trolox, que se realizan a pH 7.0 y 5.0, respectivamente.

- Preparación de la recta de calibrado.

Realizamos disoluciones con distintas concentraciones de trolox (0, 5,10 ,15 ,20, 25 ,30 ,35 ,40 μM) a partir de la disolución madre.

- Preparación de las muestras.

Se preparan distintas disoluciones con concentrado de zumo de granada, polvo comercial de granada, microencapsulados de granada, zumo exprimido directamente de la granada.

- Inicio del análisis.

El análisis comienza con la formación del radical ABTS, mediante la reacción del peróxido de hidrógeno con el ABTS. Para conseguir una concentración de radical con una absorbancia entre 0.6 y 0.8 se ha utilizado una concentración de peróxido de hidrógeno 40 μ M, de peroxidasa 50 nM, y de ABTS 0.4 mM, en pH= 5.0. A continuación se realiza la reacción entre el radical y el antioxidante, es decir, o bien con trolox (nos sirve para realizar la recta de calibrado), o bien con 30 μ L de muestra, pudiendo determinar la actividad antioxidante del zumo.

- Finalmente se mide la absorbancia de cada uno de los experimentos con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 735 nm.

g) Análisis mediante HPLC

La Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) es la técnica más utilizada en la investigación de pigmentos debido a su sensibilidad, su fácil adaptación, las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación y su aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria alimentaria. Se trata de un método físico de separación basado en la distribución de componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. En cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que eluye a través de la columna que contiene a la fase fija.

La cromatografía líquida se lleva a cabo en una columna, en la que los distintos compuestos presentes en la muestra se separan en el interior de la columna según su mayor o menor afinidad con la fase móvil y la estacionaria. Con el objeto de aumentar la eficiencia en las separaciones, el tamaño de las partículas de la fase estacionaria se va disminuyendo hasta el tamaño de micras, lo cual genera la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluya la fase móvil.

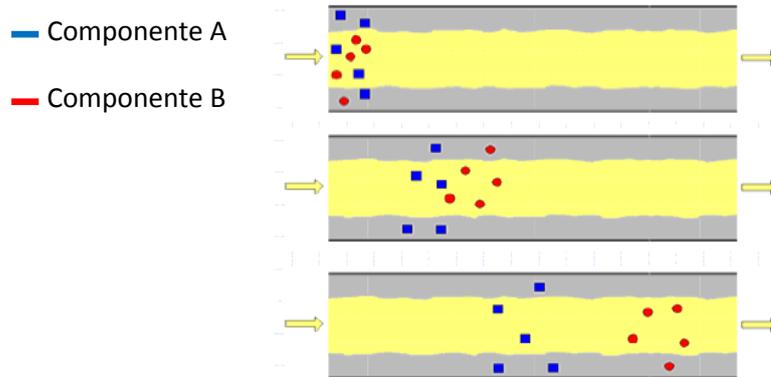


Figura 41: Separación de los componentes A y B mediante HPLC.

En este trabajo se ha empleado un equipo de HPLC, cromatografía líquida de alta resolución de Waters (Milford, MA, USA), compuesto por dos bombas M-510, un detector de fotodiodos (PDA) M-996, un detector de fluorescencia modelo W-2475 (no utilizado en la experimentación) y un inyector automático modelo 7125 (Rheodyne, Cotati, CA, USA). Tal y como muestra la figura 44.

La columna empleada es una C18 (fase reversa químicamente, formada por cadenas de hidrocarburo lineal de 18 átomos de carbono), en concreto una Zorbax SB-C18, con un tamaño de partícula de 5 μm , de la casa Agilent (USA). El análisis de datos obtenido por el HPLC funciona con un sistema de datos Millennium³² 2010.

Como en la mayoría de los análisis realizados hasta el momento es necesaria la preparación de la muestra, así esta puede ser inyectada en el HPLC sin problemas. La preparación de la muestra consiste en tomar 5 g de microencapsulado de zumo de granada y realizar una disolución de 10 mL en agua. A continuación parte de esta disolución se centrifuga durante 5 min a 13000 rpm, eliminándose los restos vegetales insolubles. Una vez realizada la centrifugación (centrífuga modelo Hermle Z 383 K), la muestra se filtra en un filtro de 0.45 μm y se vierte a un vial, se ajustan las condiciones del HPLC y dejamos que este actué. Como se detalla en la figura 43.

Tabla 7: Condiciones de funcionamiento del HPLC.

Condiciones de funcionamiento del HPLC	
Fase móvil A	Agua ultrapura/ácido fórmico (90v/10v)
Fase móvil B	Acetonitrilo/ácido fórmico (90v/10 v)
Flujo	1 mL/min
Detección	Detector de fotodiodos
Volumen de inyección (µL)	10
Nº Inyecciones en muestra	2
Duración (min)	46

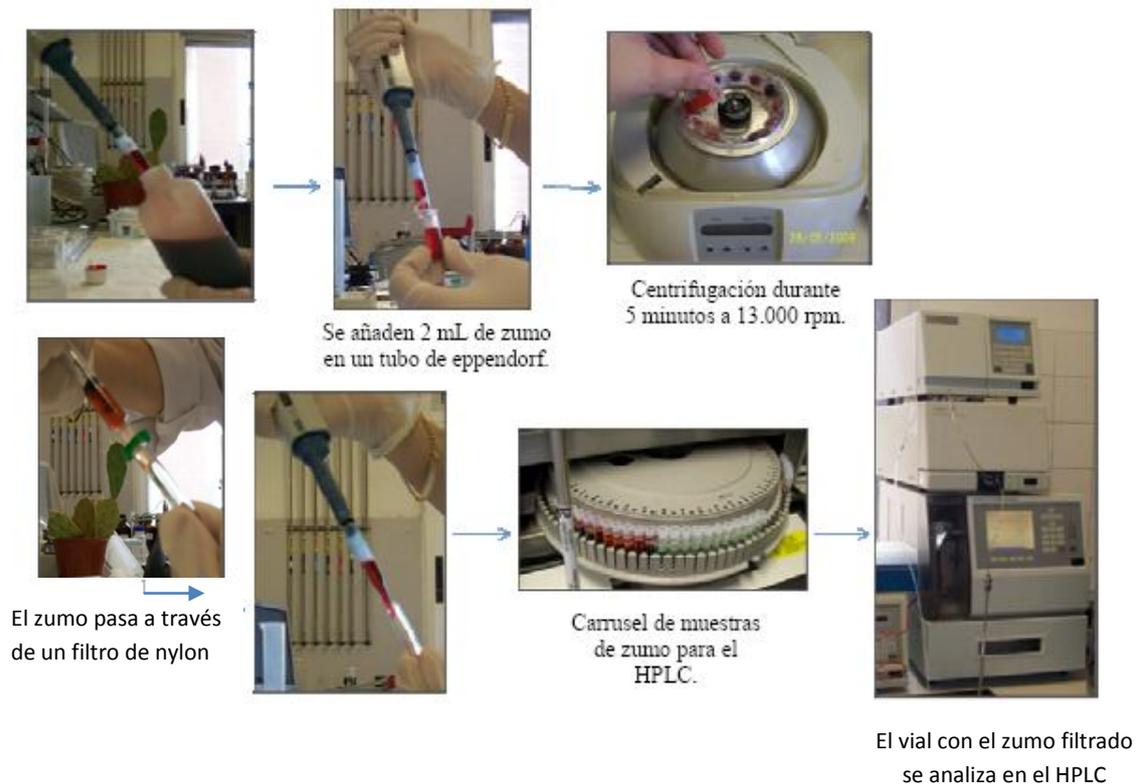


Figura 42: Proceso de preparación de las muestras para su análisis en el HPLC.

Tabla 8: Gradiente de las bombas A y B empleadas en el análisis por HPLC.

Tiempo (minutos)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0	93.3	6.7
1	93.3	6.7
26	83.3	16.7
35	44.4	55.6
38	44.4	55.6
43	93.3	6.7
46	93.3	6.7

El método analítico empleado en este estudio se denomina: Método IFU nº 71 (1998) de análisis de antocianinas por HPLC con detección UV definido en el Código Alimentario (CODEX STAN 247-2005).



Figura 43: HPLC del laboratorio de Ingeniería Química y Ambiental de la UPCT.

h) Medidas de la densidad aparente

Para obtener información adicional de los microencapsulados obtenidos, se realizarán experimentos de densidad aparente. Con este tipo de análisis se puede determinar de forma cualitativa el tamaño de la partícula.

El método de medida es sencillo. En un eppendorf se introduce una pequeña cantidad de microencapsulado de granada, este se va compactando mediante agitación, hasta llegar a un volumen de 2 mL. Conforme se va compactando se va introduciendo más polvo, finalizándose el análisis cuando se llega a la máxima compactación en los 2 mL. Posteriormente se pesa el eppendorf y se relaciona este peso con el volumen inicial.

i) Análisis SEM (Scanning Electron Microscopy)

El microscopio de barrido es aquel que utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen de alta resolución.

En el microscopio electrónico de barrido es necesario acelerar los electrones en un campo eléctrico, para aprovechar de esta manera su comportamiento ondulatorio, lo cual se lleva a cabo en la columna del microscopio, donde se aceleran por una diferencia de potencial de 1.000 a 30.000 voltios. Los electrones acelerados por un voltaje pequeño son utilizados para muestras muy sensibles, mientras que los altos voltajes se utilizan para muestras metálicas, ya que éstas en general no sufren daños como las biológicas. Los electrones acelerados salen del cañón, y son enfocados por las lentes condensadora y objetiva, cuya función es reducir la imagen del filamento, de manera que incida en la muestra un haz de electrones lo más pequeño posible (para así tener una mejor resolución). Con las bobinas deflectoras se barre este fino haz electrones sobre la muestra, punto por punto y línea por línea.

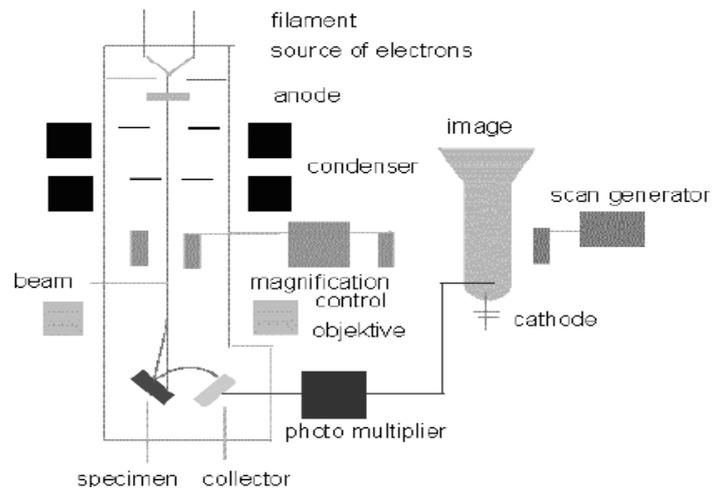


Figura 44: esquema de un SEM.

Utilizando esta tecnología se realizó un estudio de los productos en polvo obtenidos utilizando como agente encapsulante maltodextrina y nutriosa.



Figura 45: Microscopio de barrido, Hitachi modelo S-3500 N.

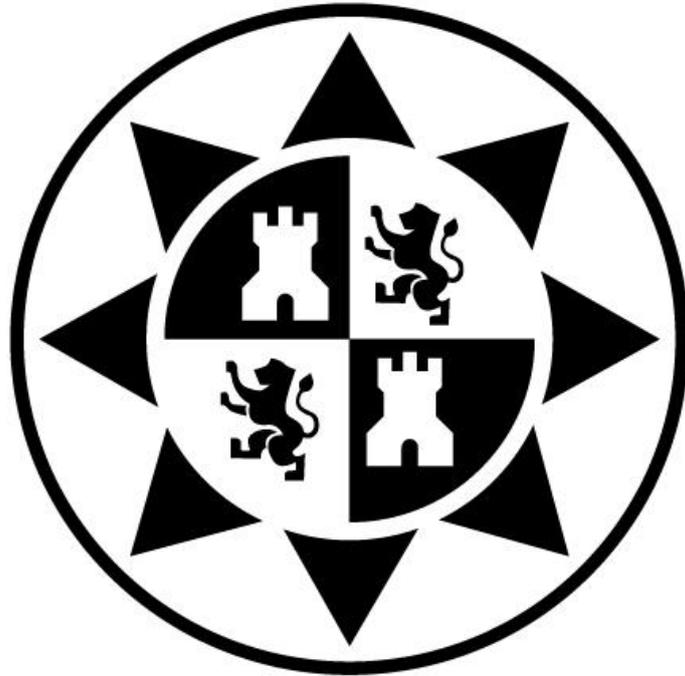
Las muestras de polvo obtenidas en los diversos experimentos se fijan a una cinta adhesiva de doble cara colocada en un porta muestras. Para el correcto estudio de las muestras es necesaria una simple preparación, pues la mayoría sólo de SEMs requiere que las muestras sean conductoras. Para ello, la muestra se recubre con una capa de carbón o de un metal como el oro, durante 120 segundos. A continuación, la

muestra es barrida con los electrones acelerados que viajan a través del cañón. Un detector mide la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad de la zona de muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones, proyectados en una imagen de TV o una imagen digital.

La lente se colocó a 5 mm de distancia. Todas las imágenes se tomaron buscando un campo representativo de la muestra, operando a 5 Kv y empleando una magnificación de 1000 y 3000 aumentos.



Figura 46: Portamuestras con las muestras sin metalizar.



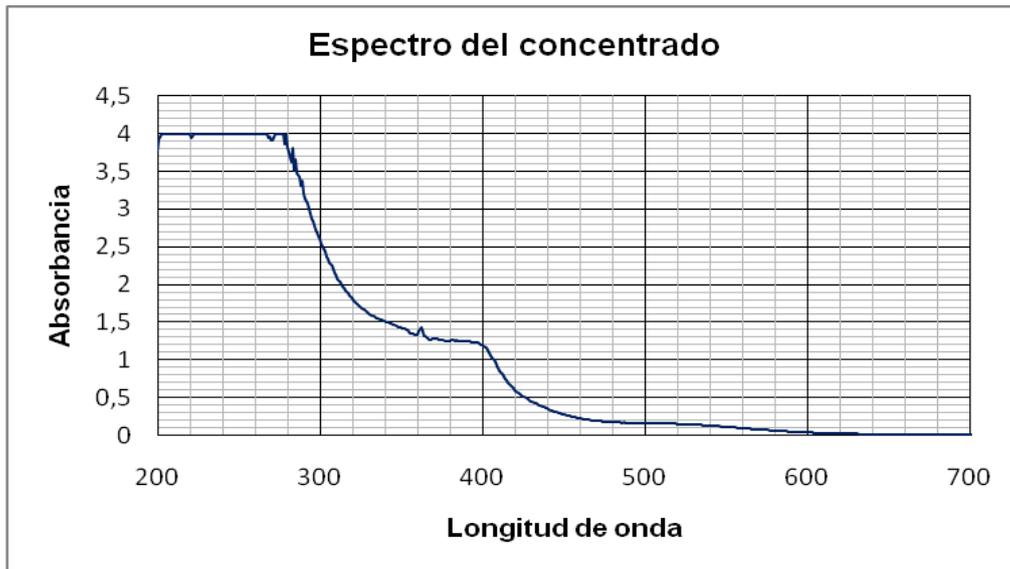
Capítulo 4

Resultados y discusión

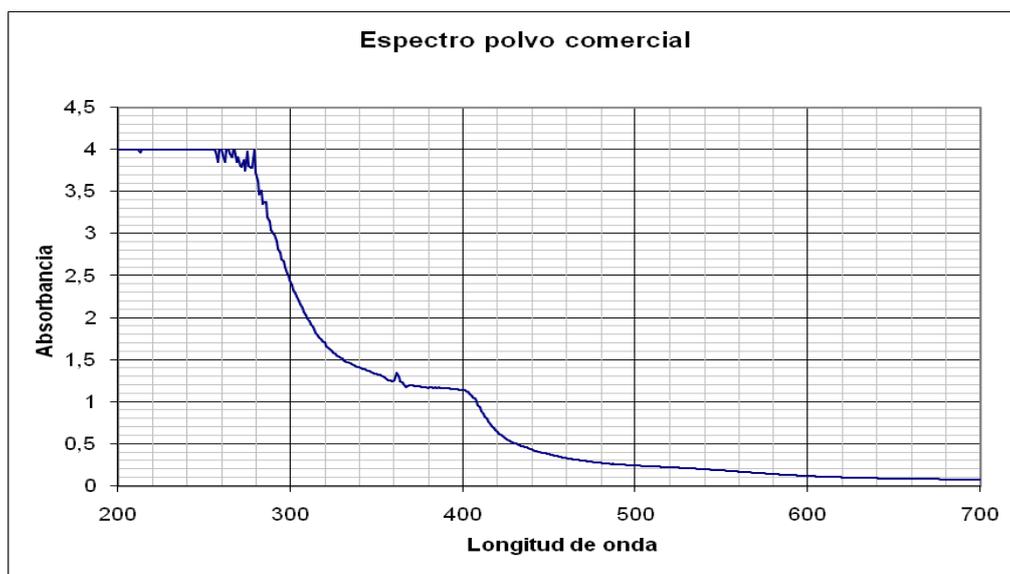
4. Resultados y discusión

4.1. Caracterización del concentrado de zumo de granada

4.1.1. Espectro del zumo de granada



Gráfica 1: Espectro del concentrado de zumo de granada (disolución 1 g/25 mL).



Gráfica 2: Espectro del polvo comercial de zumo de granada (disolución 1 g/25 mL).

A pesar del espectro similar, la simple observación muestra diferencias apreciables de color entre el concentrado comercial, el polvo comercial y el zumo de granada recién exprimido. En la figura se muestra el color que presentan los zumos reconstituidos de granada de unos 22 °Brix a partir del concentrado y el polvo comercial, junto con zumo recién exprimido.



Figura 44: De izquierda a derecha. Colores observados en los zumos reconstituidos a partir del concentrado, del polvo comercial, y zumo exprimido.

4.1.2. Medida de la densidad del concentrado de granada

Para determinar la densidad del concentrado de zumo de granada nos valemos de un análisis sencillo consistente en el pesado por triplicado (microbalanza Sartorius Bp 121 S) de 10 mL de zumo de granada.

Tabla 9: Densidad del concentrado de zumo de granada.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Peso (g)	12.8170	12.8415	12.8523
Peso medio (g)	12.8369		
Densidad (Kg/m ³)	1.28369		

4.1.3. Cálculo del peso seco del zumo de granada

El cálculo del peso seco del zumo de granada se basa en el secado por triplicado en una estufa de secado y esterilización "Digitheat", de la marca Selecta a 90 °C de 10 g de concentrado de zumo de granada. Transcurrido un tiempo se saca de la estufa, se deja enfriar, se pesa y se introduce de nuevo a la estufa. El concentrado permanecerá en la estufa hasta que se produzca la estabilización del peso, en este estudio la estabilización del peso tuvo lugar transcurridas 96 h desde el inicio del experimento.

Tabla 10: Peso de los distintos experimentos una vez sacados de la estufa.

	Experimento 4	Experimento 5	Experimento 6
Peso inicial	10.5024	10.0679	10.0016
Peso zumo 24 h (g)	6.7036	6.4525	6.4016
Peso zumo 48 h (g)	6.5137	6.2828	6.2258
Peso zumo 72 h (g)	6.5715	6.3079	6.2830
Peso zumo 96 h (g)	6.5695	6.3038	6.2802
% Peso	62.5524	62.6128	62.7920

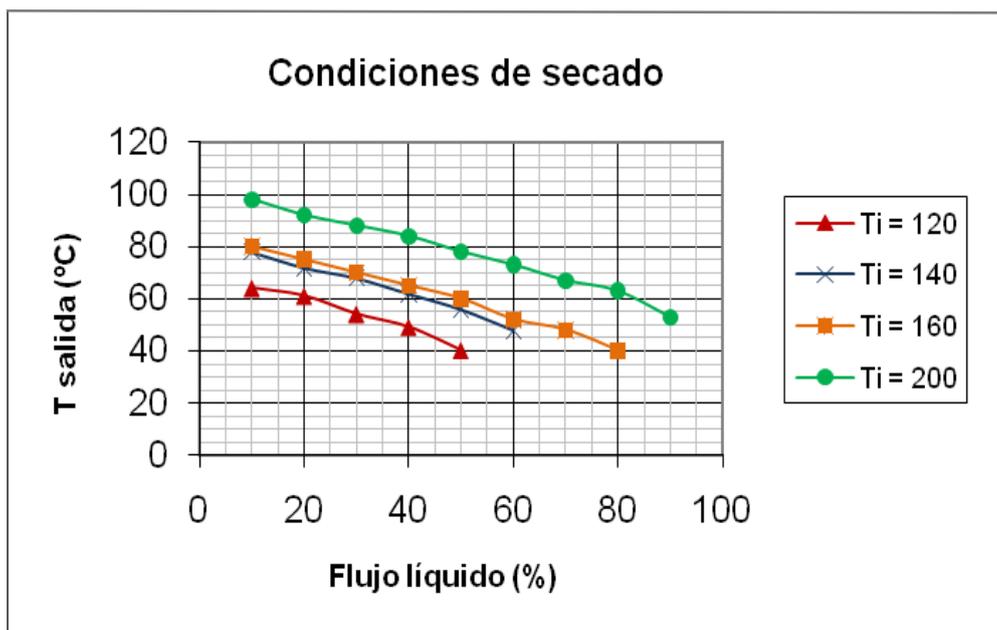
Calculamos el % en peso medio para los tres experimentos:

$$\% \text{ peso} = \frac{g \text{ Peso seco}}{g \text{ Zumo Granada}} * 100 = 62.6523 \quad (3)$$

4.2. Optimización de las condiciones de secado

4.2.1. Estudio de las condiciones de secado viables

Con este apartado se pretende esclarecer cuales serían las condiciones de secado viables, que nos permitan obtener microencapsulados de zumo de granada. Para ello, se lleva a cabo el secado de agua a distintas temperaturas de entrada (120, 140, 160, 200 °C) y distintos caudales de atomización (10-90%).



Gráfica 3: Condiciones de secado viables en el proceso de secado por atomización.

Tal y como se observa en la gráfica, si se trabaja a baja temperatura no se consiguen secar caudales altos de líquido. Esto se debe a que el aire caliente empleado para el secado no contiene suficiente calor para producir la evaporación total del líquido que llega al cilindro de atomización. Vemos, por ejemplo, cómo caudales de un 80% (1.44 L/h) de la bomba de alimentación sólo pueden secarse con temperaturas de 180 °C o superiores.

4.2.2. Optimización de la relación encapsulante/zumo de granada

En la introducción se ha explicado como los zumos presentan un elevado contenido de azúcares como glucosa y fructosa y ácidos orgánicos como ácido cítrico, málico y tartárico, que hacen que en el secado por atomización se obtenga polvos con problemas de pegajosidad e higroscopicidad. Para eliminar estos problemas se ha propuesto en el presente trabajo la adición de agentes encapsulantes como maltodextrina, nutriosa, actiligth...

El objetivo que se plantea es conocer la mejor relación encapsulante/zumo para conseguir la mejor microencapsulación del zumo de granada. Consideramos que el parámetro a optimizar es el rendimiento.

La muestra líquida a atomizar se preparaba mezclando encapsulante, zumo y agua en las proporciones indicadas en cada experimento.



Figura 47: Esquema de preparación de las muestras.

Por otro lado se determinó la temperatura de salida del aire, los grados brix de las disoluciones de zumo, de agente encapsulante y la mezcla de ambos. Además se anotaron observaciones sobre el grado de suciedad del cilindro de atomización o del ciclón, tras el proceso de secado por atomización.

❖ **Uso de maltodextrina como agente encapsulante**

Anteriormente se ha comentado que la adición de aditivos como la maltodextrina es necesaria en este tipo de técnicas, pero la cantidad que se debe añadir no tiene que exceder los límites operacionales del equipo (ya que podría incrementarse la viscosidad, afectar negativamente al rendimiento, y alterar el sabor). La adición de maltodextrina es necesaria ya que aumenta el contenido de sólidos totales en la alimentación, reduciendo el contenido de humedad del producto, a la vez que altera la superficie pegajosa de los azúcares de bajo peso molecular, facilitando así el secado y reduciendo la pegajosidad. Actualmente la maltodextrina es el aditivo más usado para obtener polvo de zumos de frutas, ya que a la vez de satisfacer la demanda es barato (Bhandari et al. 1993).

Las propiedades físicas del zumo están relacionadas con la facilidad de reconstitución, incluido el contenido en humedad, densidad aparente, densidad real y porosidad, tamaño y distribución de la partícula. Estas propiedades están influenciadas por el tipo de spray-dryer, velocidad de operación, presión y temperatura de entrada y salida del aire (variables optimizadas posteriormente).

Otros estudios previos de Borges et col. (2002) con polvo de zumo de fruta de la pasión y piña, muestran que operando con un mini spray-dryer con boquillas de aspersión, un incremento en la concentración de maltodextrina provoca un aumento de la densidad aparente del producto y un cambio en la temperatura de salida. Pero esta interacción no tiene efecto en la densidad real, ni en las propiedades relacionadas con la reconstitución del polvo.

Un aumento en la velocidad de atomización provoca una reducción del tamaño de partícula y una incorporación de aire en la alimentación dando lugar a productos porosos de baja densidad aparente (Pisecky, 1978), haciendo la rehidratación más difícil.

El color de la comida es uno de los atributos sensoriales más importantes para la aceptación del producto. Durante el secado esta propiedad puede estar afectada por las condiciones del aire (temperatura y rango de flujo), de la alimentación y la velocidad de atomización (Caiand Corke, 2000; Desobry, Netto and Labuza, 1997; Masters, 1979). Otras informaciones tratan la influencia de un aditivo específico y la velocidad de atomización sobre el color (Kalil and Sial, 1974) estableciendo que velocidades de atomización de 40-500 rpm tienen efectos bajos sobre el color, mientras que un incremento en la concentración de aditivos tiene efectos negativos sobre el color del producto.

Se realizó un experimento sin adicionar ningún agente encapsulante, pero el rendimiento de la atomización resultó muy bajo, quedando la cámara de secado y el ciclón recubiertos de una apreciable capa de zumo. El polvo obtenido es mucho más oscuro e inmediatamente después se vuelve pegajoso, por lo que queda claro la necesidad de añadir de un agente encapsulante para conseguir un producto en polvo estable, así como para aumentar el rendimiento de la atomización. Así, se ensayaron los diferentes agentes encapsulantes (nutriosa, maltodextrina, beneo y actilight) empleados en este trabajo variando para ello la relación de agente encapsulante/concentrado con valores de 0.75, 1.00, 1.25 y 1.50 y haciendo estos experimentos a las temperaturas de 120 °C y 160 °C.

- Variación de la relación maltodextrina/concentrado a 120 °C

Las condiciones de trabajo utilizadas para el secado por atomización fueron iguales en todos los experimentos:

Tabla 11: Condiciones de trabajo utilizadas en los experimentos.

Temp. Aire entrada (°C)	Caudal aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado de dilución
120	80	0.72	10	25

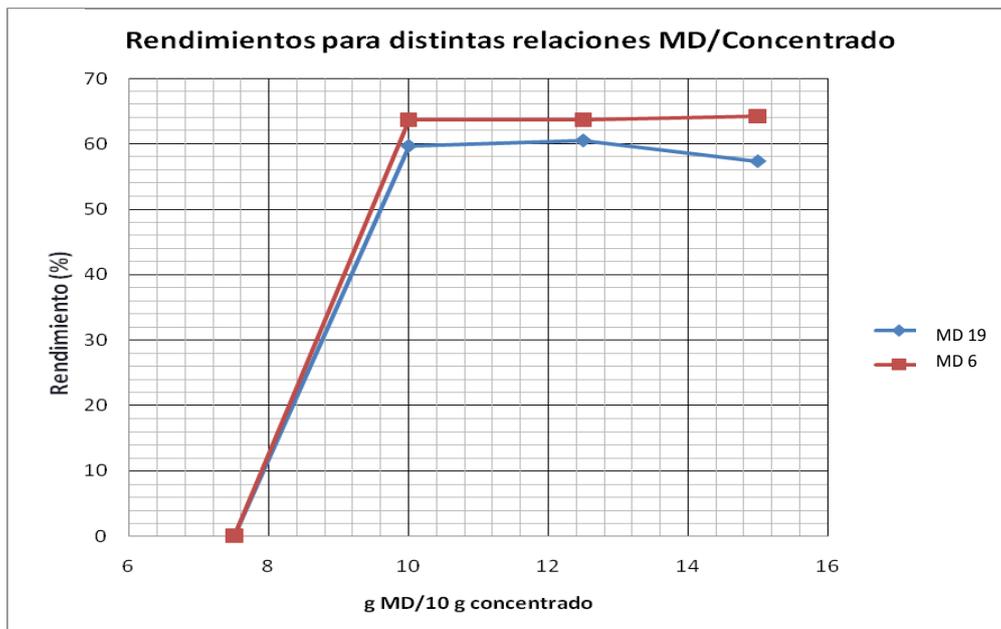
Los valores de rendimiento en producto obtenidos tras el secado por atomización se presentan en la tabla 12 y 13:

Tabla 12: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como encapsulante maltodextrina 6 a 120 °C.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
7	60	60	MD6	7.5	0.00	0.00
8	63	57	MD6	10.0	10.37	63.66
9	65	55	MD6	12.5	11.97	63.69
10	66	54	MD6	15.0	13.68	64.26

Tabla 13: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como encapsulante maltodextrina 19 a 120 °C.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
11	61	59	MD19	7.5	0.00	0.00
12	63	57	MD19	10.0	9.74	59.77
13	61	59	MD19	12.5	11.38	60.59
14	61	59	MD19	15.0	12.23	57.42



Gráfica 4: Efecto de la relación encapsulante/zumo en el rendimiento obtenido tras el secado con maltodextrina 6 y 19 a 120 °C.

En los experimentos realizados mediante secado por atomización con relaciones maltodextrina/zumo de granada menores que 1.00 se obtuvo producto en polvo, pero este polvo en el momento que entraba en contacto con la humedad ambiente tomaba rápidamente agua y se transformaba en un líquido pegajoso.

Así, en la gráfica 4 se ha considerado que el rendimiento en producto en esas condiciones de ensayo era cero, una vez tenido en cuenta este fenómeno, se observan rendimientos ligeramente mayores en producto en los experimentos en los que se utilizó maltodextrina 6 como agente encapsulante.

Por otra parte, se obtienen rendimientos altos a partir de una relación encapsulante/zumo de granada igual a 1.00.

- Variación de la relación maltodextrina/concentrado a 160 °C

Haciendo los mismos experimentos a la temperatura de entrada de 160 °C se obtienen los rendimientos:

Tabla 14: Condiciones de trabajo utilizadas en los experimentos.

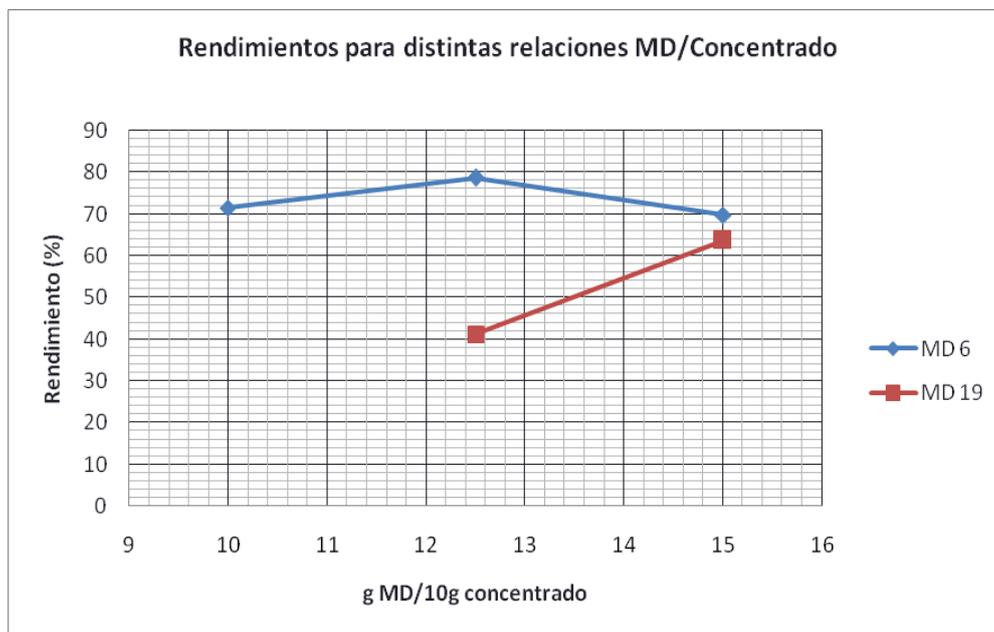
Temp. Aire entrada (°C)	Caudal aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado de dilución
160	80	0.72	10	25

Tabla 15: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como encapsulante maltodextrina 6 y 19 a 160 °C.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
15	89	71	MD6	10.0	11.65	71.49
16	88	72	MD6	12.5	14.79	78.70
17	87	73	MD6	15.0	16.16	69.88
18	89	73	MD 19	12.5	7.76	41.30
19	87	74	MD 19	15.0	13.58	63.80

En la gráfica que se muestra a continuación, la mejor relación encapsulante/zumo de granada es la correspondiente al valor 1.25, ya que tal y como se observa el rendimiento en producto es máximo en esa relación, y no se mejora al aumentar la proporción de agente encapsulante.

La temperatura de 160 °C dió los mejores resultados en comparación con 120 °C.



Gráfica 5: Efecto de la relación encapsulante/zumo en el rendimiento obtenido tras el secado por atomización con maltodextrina 6 y 19 a 160 °C.

❖ Uso de nutriosa como agente encapsulante

Uno de los objetivos de nuestro estudio es la comparación del rendimiento obtenido con maltodextrina con el obtenido con nutriosa como encapsulante, ya que, si se obtuviesen rendimientos en productos en el mismo orden, debe plantearse el uso de nutriosa en el secado, ya que ésta es muy rica en fibra. La nutriosa es un nutriente beneficioso para nuestra dieta debido a sus múltiples efectos positivos en nuestra

salud, incluyendo la regulación intestinal, la moderación del metabolismo glucídico y lipídico y la prevención de la obesidad. Sin embargo, en la dieta típica actual de los países desarrollados, el consumo de fibra ha caído a 12-15 g/día/persona, contra la dosis diaria recomendada de 20-35 g/día/persona (Roquette, 2006), por lo que al añadir en el proceso de secado por atomización un encapsulante con gran contenido en fibra, se cubriría parcialmente el déficit producido en la alimentación actual.

Para su utilización se va a aplicar la misma metodología de optimización de las condiciones de secado que hemos empleado con la maltodextrina.

- Variación de la relación nutricional/concentrado a 120 °C

Las condiciones de trabajo utilizadas para el secado por atomización fueron iguales en todos los experimentos:

Tabla 16: Condiciones de trabajo utilizadas en los experimentos.

Temp. Aire entrada (°C)	Caudal aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado dilución
120	80	0.72	10	25

Los valores de rendimiento en producto obtenidos tras el secado por atomización se presentan en la tabla 17:

Tabla 17: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como agente encapsulante nutriosa a 120 °C.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
18	62	58	Nutriosa	5.0	5.60	49.57
19	61	59	Nutriosa	7.5	9.28	67.27
20	69	51	Nutriosa	10.0	11.97	73.47
21	68	52	Nutriosa	12.5	13.86	73.74

Utilizando nutriosa como agente encapsulante en el proceso de atomización se obtienen rendimientos en producto ligeramente superiores a los obtenidos con la maltodextrina 6. Por otro lado, si nos centramos en la relación encapsulante/zumo de granada se observa que la mejor relación sigue siendo 1.25.

- Variación de la relación nutriosa/concentrado a 160 °C

Ahora se intenta ver la influencia de la temperatura fijada a 160 °C sobre la relación agente encapsulante/zumo óptima para las condiciones de trabajo siguientes:

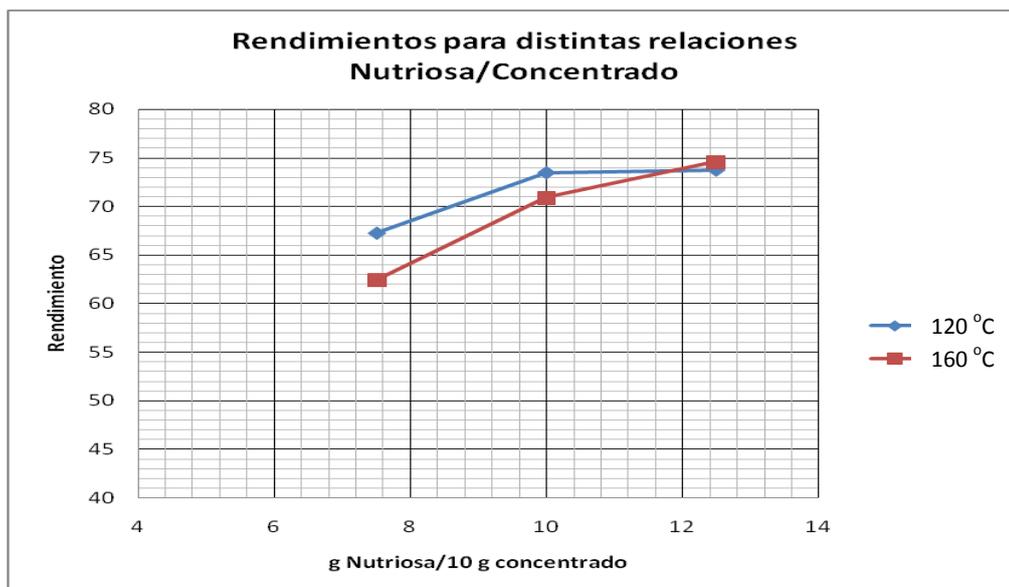
Tabla 18: Condiciones de trabajo utilizadas en los experimentos.

Temp. Aire entrada (°C)	Caudal aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado dilución
160	80	0.72	10	25

Tabla 19: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como agente encapsulante nutriosa a 160 °C.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
22	88	72	Nutriosa	7.5	8.60	62.38
23	86	74	Nutriosa	10.0	11.55	70.87
24	85	75	Nutriosa	12.5	14.01	74.58
25	85	75	Nutriosa	15.0	15.96	74.95

Para estas nuevas condiciones experimentales, se llega al mismo resultado que obtuvimos para la nutriosa a 120 °C, es decir, la mejor relación encapsulante/zumo de granada es 1.25. Además se realizó un experimento con relación 1.50 sin observarse un rendimiento superior. Como siempre hay que tener en cuenta el punto de vista económico se elige la menor relación agente encapsulante/zumo de granada, relación 1.25.



Gráfica 6: Efecto de la relación agente encapsulante/zumo en el rendimiento obtenido tras el secado por atomización con nutriosa a 120 °C y 160 °C.

Como conclusión a este apartado, podemos afirmar la presencia de los agentes encapsulantes mejora en todos los casos el rendimiento en producto obtenido, siendo necesaria en cada uno de los experimentos de secado por atomización una relación mínima de agente encapsulante/zumo de granada de 1.00 o 1.25 para conseguir obtener producto en polvo sin problemas de pegajosidad.

En la bibliografía de secado por atomización de productos similares al zumo de granada, como son los zumos de grosella negra, albaricoque y frambuesa, y que utilizan maltodextrina 6 como agente encapsulante, se ha encontrado que las mejores relaciones maltodextrina/zumo son 2.16, 1.5 y 1.22 respectivamente; expresadas estas relaciones en función de los grados brix (Bhandari et al., 1993). En el secado por atomización del zumo de granada se ha encontrado que los mayores rendimientos tanto se dan con una relación similar.

En estas citas los mejores rendimientos se sitúan por encima del 50% lo que supone que casi la mitad del producto inicial atomizado se pierde a través de la salida de aire a la atmósfera.

❖ **Uso de otros agentes encapsulantes**

El mismo proceso utilizado con los agentes de secado maltodextrina y nutriosa se emplea en este análisis pero en este caso se hace uso de distintos encapsulantes.

Las condiciones de trabajo utilizadas para el secado por atomización fueron iguales en todos los experimentos:

Tabla 20: Condiciones de trabajo utilizadas en los experimentos

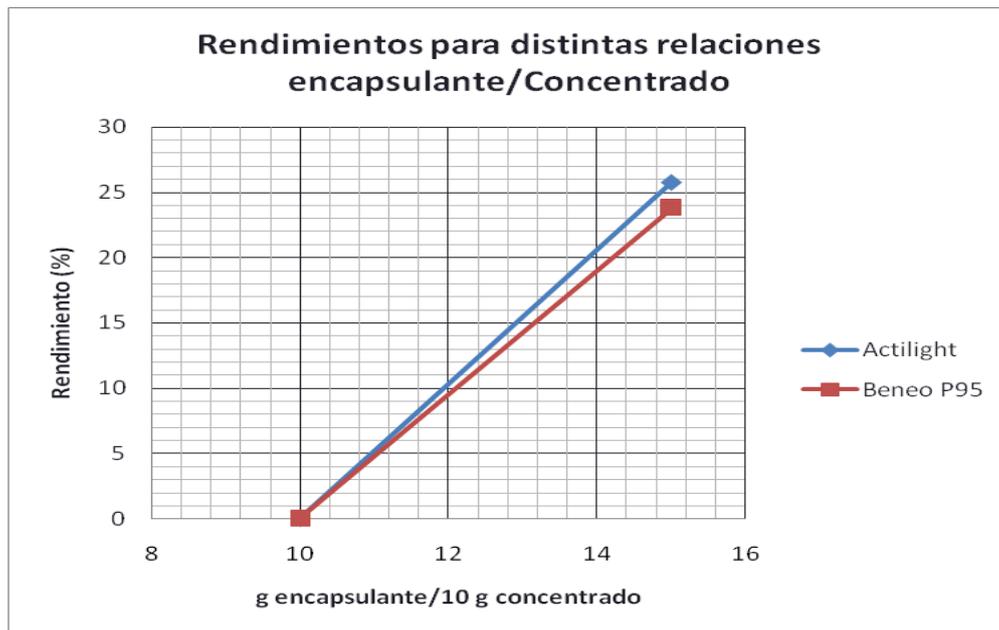
Temp. Aire entrada (°C)	Caudal aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado dilución
120	80	0.72	10	25

Los valores de rendimiento en producto obtenidos tras el secado por atomización se presentan en la tabla 21:

Tabla 21: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando distintos agentes encapsulantes.

Experimento	T _{sal} (°C)	ΔT	Tipo encapsulante	Encapsulante (g)	Polvo obtenido (g)	η (%)
26	63	57	Actilight	10.0	0.00	0.00
27	62	58	Actilight	15.0	5.48	25.76
28	61	58	Beneo P95	10.0	0.00	0.00
29	61	59	Beneo P95	15.0	5.06	23.78

En un primer experimento, se utilizó una relación baja de encapsulante/zumo de granada, obteniendo un producto muy pegajoso. A partir de este experimento, se puede concluir que para este tipo de encapsulantes es necesaria una relación encapsulante/zumo de granada más alta, para poder obtener un producto en polvo con mayor rendimiento.



Gráfica 7: Efecto de la relación encapsulante/zumo en el rendimiento obtenido tras el secado por atomización con distintos agentes encapsulantes.

Se obtienen unos rendimientos muy bajos en el proceso de secado por atomización con estos agentes encapsulantes, sea cual sea la relación encapsulante/zumo de granada.

4.2.3 Optimización de otras variables

El siguiente paso en este trabajo de investigación, es la optimización del resto de condiciones de secado por atomización, como pueden ser el grado de dilución del concentrado, caudal de alimentación líquida y la temperatura. Hay que tener en cuenta que siempre se utilizará la relación encapsulante/zumo de granada de 1.25.

Antes de empezar con la experimentación, se miden los grados brix de las distintas diluciones de zumo y se especifican las condiciones experimentales que quedaran fijadas de manera permanente en los siguientes experimentos, sea cual sea el agente encapsulante.

Tabla 22: Grados Brix de las distintas diluciones de zumo.

Volumen disolución (mL)	°Brix
100	6.40
250	2.56
500	1.28

Tabla 23: Condiciones de secado que se van a utilizar en los ensayos.

Encapsulante (g)	Zumo concentrado (g)	Aspiración (%)	Temperatura (°C)	Caudal atomización (L/h)	Aspiración (%)
12.5	10	80	120	0.72	80
			160		
			200		



❖ **Optimización de la temperatura, caudal bomba atomización y grado de dilución empleando maltodextrina como encapsulante**

En los siguientes experimentos se procede al secado por atomización del zumo de granada usando como agente encapsulante maltodextrina 6. En el proceso se optimizará la temperatura, el caudal de la bomba de atomización y el grado de dilución.

Tabla 24: Valores de rendimiento obtenidos maltodextrina 6 como encapsulante.

Experimento	T (°C)	Tsal _{aire} (°C)	ΔT	Caudal bomba atomización (L/h)	Grado de dilución	Polvo obtenido (g)	η (%)
29	200	108	92	1.08	50	10.80	57.48
30	200	93	107	1.08	25	12.44	66.21
31	200	107	93	1.08	10	11.37	60.54
32	200	108	92	0.72	50	11.92	63.44
33	200	109	91	0.72	25	13.48	71.74
34	200	110	90	0.72	10	12.55	66.78
35	160	70	90	1.08	50	12.98	69.07
36	160	69	91	1.08	25	11.41	60.71
37	160	73	87	1.08	10	11.32	60.22
38	160	83	77	0.72	50	15.12	80.44
39	160	86	74	0.72	10	13.85	73.73
40	120	49	71	1.08	50	0.00	0.00
41	120	47	73	1.08	25	0.00	0.00
42	120	59	61	1.08	10	4.03	21.45
43	120	61	59	0.72	50	14.20	75.58
44	120	62	58	0.72	10	12.10	64.39

Observamos que en el experimento 29, 32 y 33 el atomizador queda un poco sucio. Sin embargo, en el experimento 31, 34 y 37 se encuentra mucho polvo alrededor del atomizador, incluso existe polvo al final de dicho atomizador, pero el ciclón está limpio. Por otra parte en el experimento 30 el ciclón está prácticamente limpio y el atomizador también. Finalmente el experimento 31 queda muy pegado a las paredes.

Se puede deducir que el cilindro de atomización se mancha mucho más con un zumo más concentrado y además se produce una pérdida mucho mayor de producto.



Figura 48: Experimento 30.

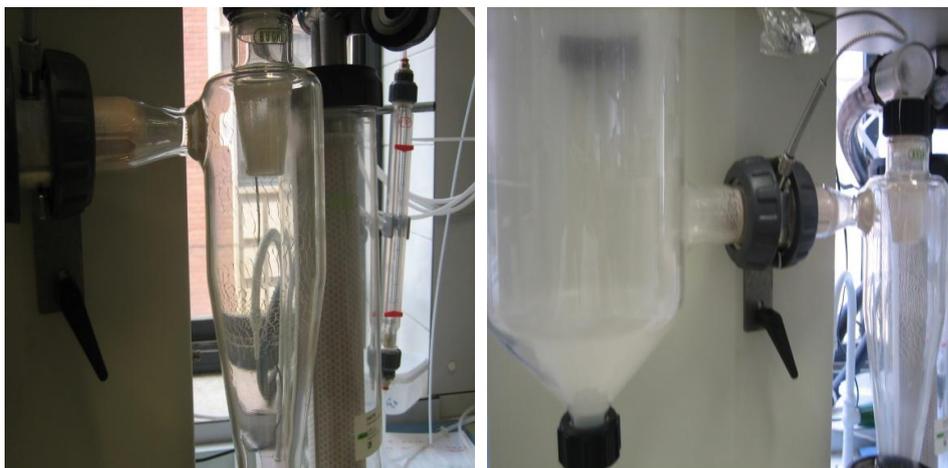


Figura 49: Experimento 31,34 y 37.

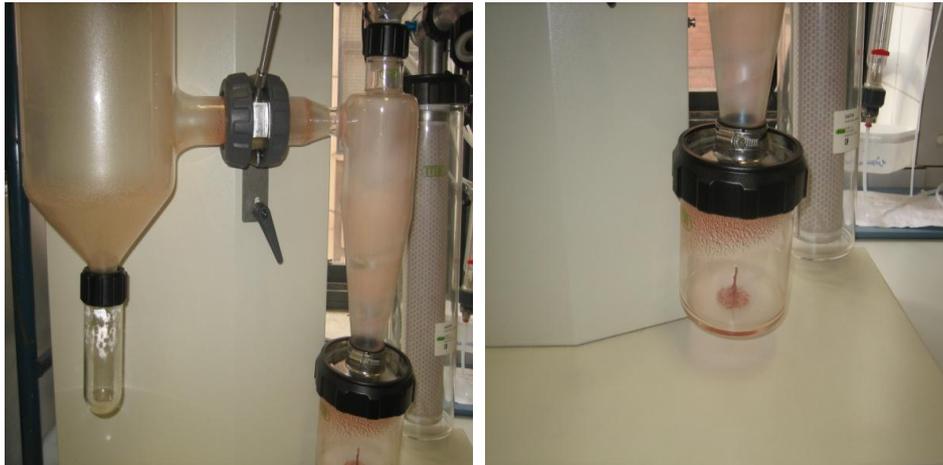
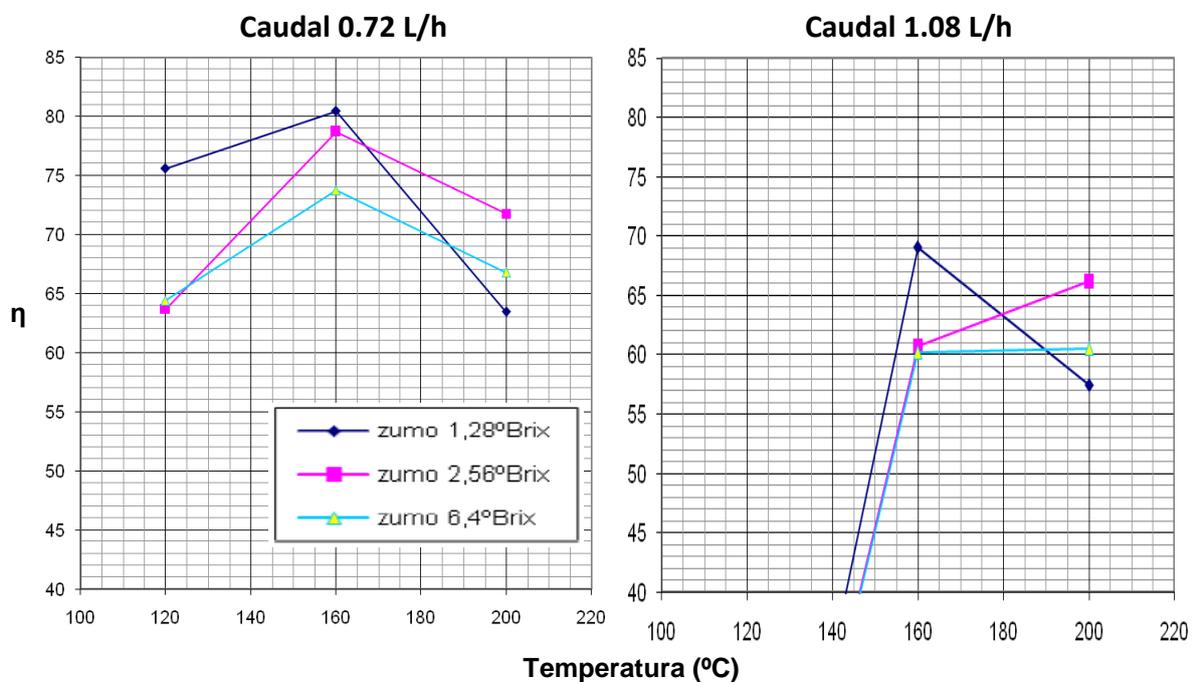


Figura 50: Experimento 31.

A continuación, se muestran dos diagramas a distintos caudales de atomización, en donde representamos cómo varía el rendimiento obtenido con la temperatura de secado, para distintas diluciones del zumo de partida.



Gráfica 8: Optimización de las variables que afectan al secado por atomización.

Se comprueba que para un caudal de bomba de atomización de 0.72 L/h, los mayores rendimientos se alcanzan cuando la mezcla es muy diluida (disolución de menor °Brix) y la temperatura es de 160 °C.

Por otro lado, para un caudal de bomba de atomización de 1.08 L/h, no se obtienen resultados muy clarificantes, las condiciones óptimas podrían ser las de un zumo de 1.28 °Brix una temperatura de 160 °C o las de un zumo de 2.56 °Brix a una temperatura de 200 °C, todo dependerá del valor económico del producto a secar. En conclusión, el caudal de líquido de 1.08 L/h nos proporciona menores rendimientos.

❖ Optimización de la temperatura, caudal bomba atomización y grado de dilución empleando nutritosa como encapsulante

Los mismos análisis realizados con la maltodextrina se repiten utilizando como encapsulante nutritosa.

Tabla 25: Valores de rendimiento obtenidos.

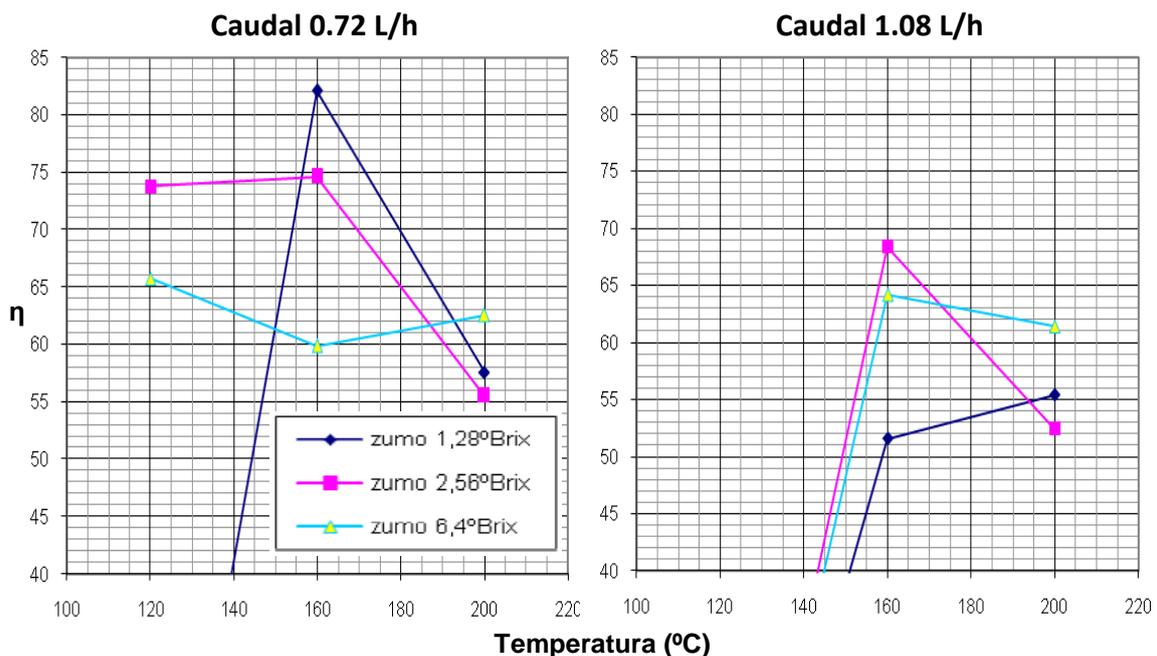
Experimento	T (°C)	Tsal _{aire} (°C)	ΔT	Caudal bomba atomización (L/h)	Grado dilución	Polvo obtenido (g)	η (%)
45	200	88	112	1.08	25	10.54	56.12
46	200	96	104	1.08	10	11.54	61.43
47	200	107	93	0.72	50	10.81	57.56
48	200	106	94	0.72	25	10.43	52.52
49	160	69	91	1.08	50	9.69	51.57
50	160	71	89	1.08	25	12.85	68.41
51	160	75	85	1.08	10	12.06	64.16

Continuación Tabla 25: Valores de rendimiento obtenidos en los experimentos utilizando como agente encapsulante nutriosa.

52	160	84	76	0.72	50	15.42	82.08
53	160	87	73	0.72	10	11.25	59.87
54	120	62	58	0.72	10	12.35	65.74
55	120	47	73	1.08	50	0.00	0.00
56	120	46	74	1.08	25	0.00	0.00

En estos análisis se observan las siguientes anomalías. En el experimento 53 y 51, el atomizador queda con mucho polvo, mientras que el ciclón está limpio. Por otro lado, el experimento 55 presenta problemas de pegajosidad.

Se comprueba que para un caudal de bomba de atomización de 0.72 L/h, los mayores rendimientos se alcanzan cuando la mezcla es muy diluida (disolución de menor °Brix) y la temperatura es de 160 °C.



Gráfica 9: Optimización de las variables que afectan al secado por atomización.

Se comprueba que para un caudal de bomba de atomización de 1.08 L/h, los mayores rendimientos se alcanzan cuando la mezcla de 2.56 °Brix y la temperatura es de 160 °C.

Tanto si se emplea en el secado por atomización un caudal de bomba de atomización de 1.08 L/h ó de 0.72 L/h, la temperatura óptima es la de 160 °C. Pero si queremos obtener un mayor rendimiento en el proceso se necesitaría un caudal de bomba de atomización de 0.72 L/h con un zumo muy diluido.

Sin embargo, podemos concluir que el secado de zumo diluido (2.56 °Brix) a la temperatura de 160 °C da unos rendimientos relativamente altos para las dos velocidades de flujo de alimentación líquida, por lo que consideramos que 160 °C y 2.56 °Brix son los parámetros óptimos obtenidos.

❖ Productividad

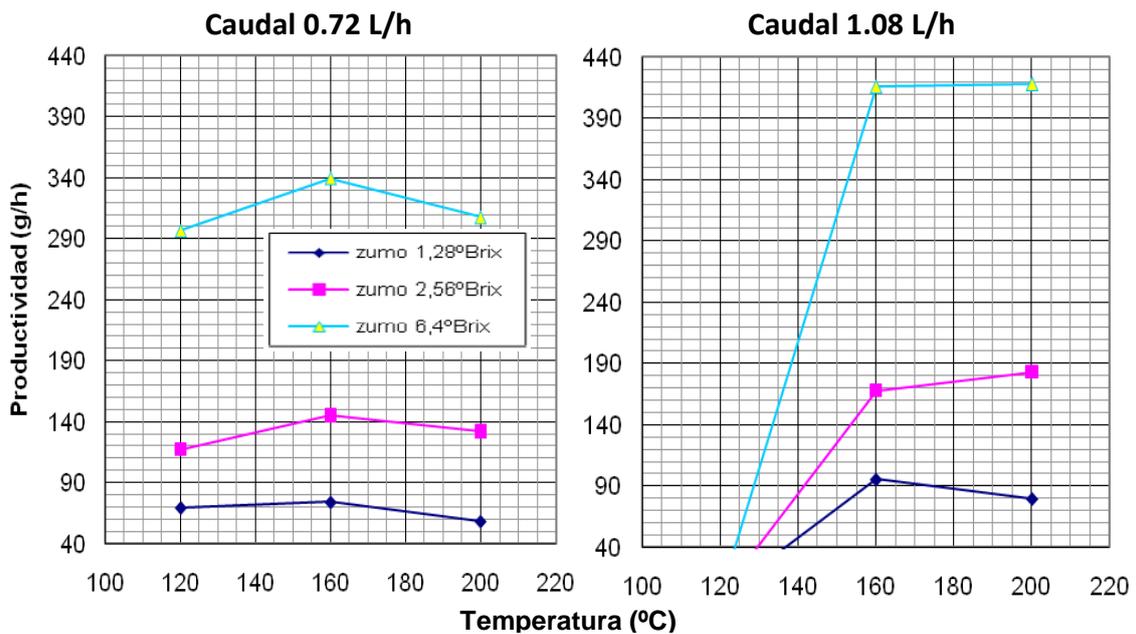
Los valores obtenidos de rendimiento en producto superiores al 50% pueden considerarse satisfactorios cuando se habla del secado por atomización. Aún así, a la hora de seleccionar las condiciones óptimas para el secado por atomización puede primar el criterio de máxima productividad.

La productividad puede calcularse de acuerdo con la siguiente ecuación:

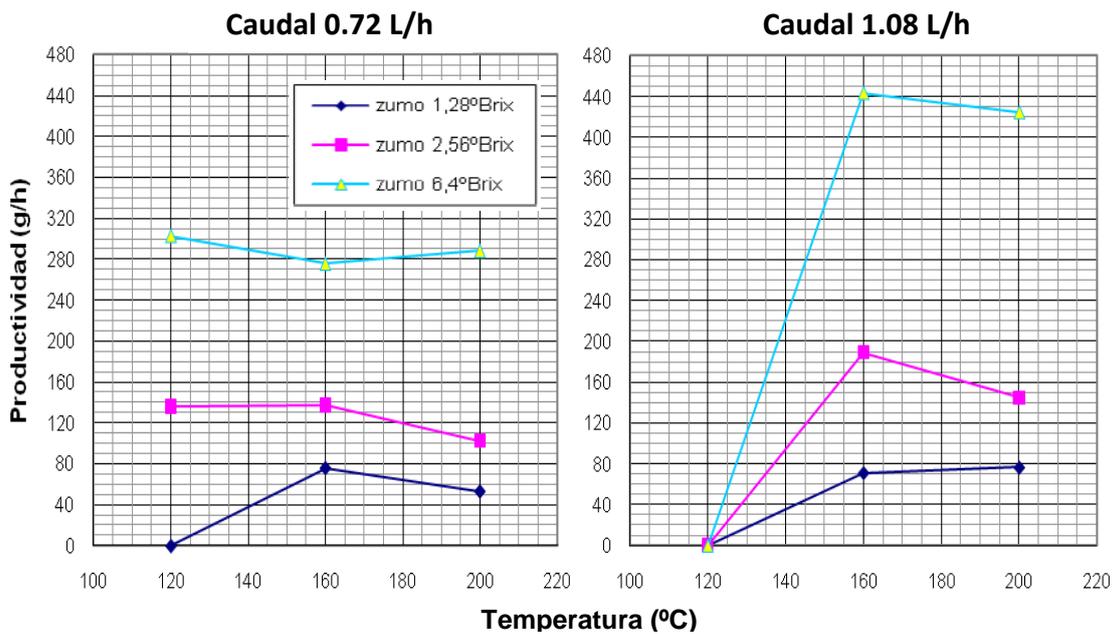
$$Productividad (g/h) = \frac{\text{Caudal alimentación (L/h)} \times [\text{Sólidos solubles}] (g/L) \times \text{Rdto peso}}{100} \quad (4)$$

En las gráficas que se muestran a continuación, se aprecia cómo usando cualquiera de los agentes encapsulantes, ya sea para un caudal de atomización de 0.72 L/h ó 1.08 L/h, la temperatura óptima son 160 °C. Observándose, además, una mayor productividad a mayor caudal de atomización. La desventaja, sin embargo, de un aumento en el caudal de líquido es la mayor pérdida de producto.

Por otro lado, se obtiene una mayor productividad cuando la mezcla está muy concentrada. En este punto hay que tener en cuenta el valor económico de la muestra a secar, ya que una mayor productividad no va asociada a un mayor rendimiento de secado.



Gráfica 10: Productividad obtenida en el proceso de secado por atomización, usando como encapsulante maltodextrina.



Gráfica 11: Productividad obtenida en el proceso de secado por atomización, usando como encapsulante nutricional.

4.3. Caracterización de los microencapsulados obtenidos

4.3.1. Estabilidad de los antocianos durante el proceso de secado

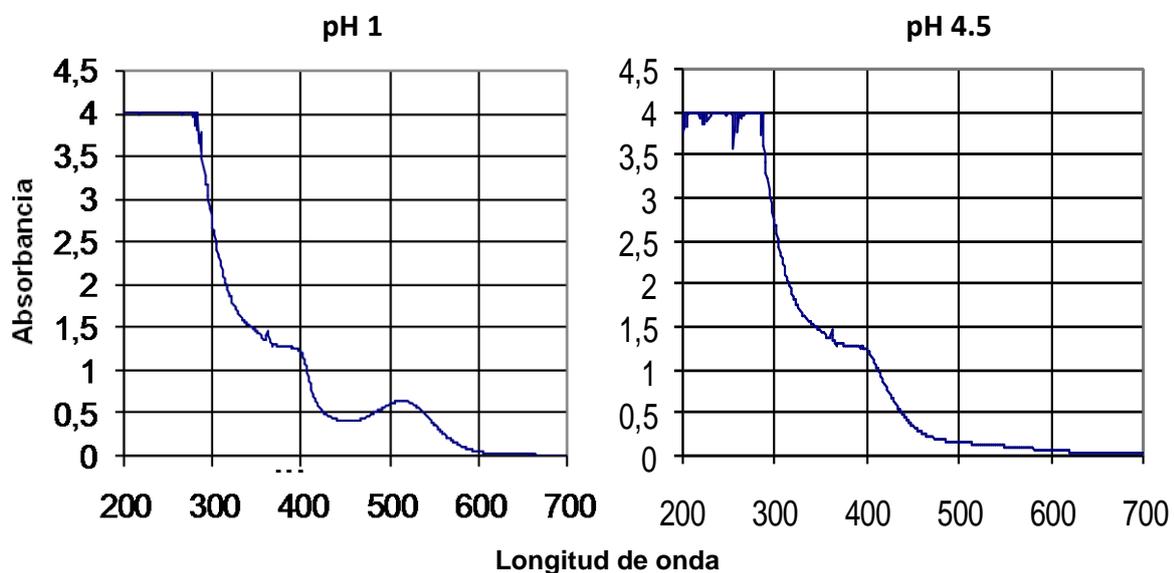
Como hemos visto anteriormente, las productividades altas se consiguen con caudales altos de alimentación líquida. Al aumentar el caudal de alimentación se atomiza lógicamente una mayor cantidad de muestra lo que implica que son necesarias mayores temperaturas para eliminar todo el contenido de agua de la muestra y conseguir elevados rendimientos de producto.

Sin embargo, se ha de realizar un control de calidad de los productos secos obtenidos en función de la temperatura de atomización, ya que determinados componentes de la muestra pueden sufrir alteraciones como consecuencia de las altas

temperaturas. Es por ello que se van a realizar análisis de contenido en antocianos y polifenoles en los polvos obtenidos a diferentes temperaturas, para ver si estos componentes se han deteriorado en el proceso de secado.

❖ **Contenido de antocianos en microencapsulados con maltodextrina 6**

La concentración total de antocianos se determina usando el método espectrofotométrico, que se explica detalladamente en el apartado cuarto, “Métodos de medida” del capítulo “Materiales y métodos”. La conformación estructural de los antocianos cambia con el pH, y este cambio se asocia a un cambio en el color de la sustancia: A pH 1.0 los antocianos existen en gran cantidad en color rosáceo mientras que a pH 4.5 toman un tono marrón. A continuación se muestran los espectros correspondientes al concentrado medidos a distintos pH.



Gráfica 12: Espectros pertenecientes al concentrado realizados a distintos pH.

Los ensayos se realizan por triplicado y hay que ajustar la concentración de la muestra para que la absorbancia quede en la franja de aplicación de la ley de Lambert-Beer, por debajo de la absorbancia 0.6. Esto se consigue disolviendo 1 g de polvo en 25 mL (tanto para nuestro producto seco como para el concentrado de partida y para el polvo comercial).

Se van a comparar los productos secos obtenidos con distintas temperaturas (120, 160 y 200 °C), manteniendo fijas el resto de las variables, como se indica en la tabla 26.

Además, se hace un análisis de contenido en antocianos del concentrado de partida, a fin de calcular posteriormente el rendimiento en antocianos, y compararlo con el rendimiento másico del proceso. También se analizará, a modo de comparación, el contenido en antocianos del polvo comercial de zumo de granada (de la casa Diana Nature, Francia).

Tabla 26: Condiciones experimentales.

Temperatura (°C)	Caudal bomba atomización (L/h)	Caudal Aspiración (%)	Zumo concentrado (g)	Encapsulante (g)	Grado dilución
200-160-120	0.72	80	10	12.5	25

Tabla 27: Resultados experimentales.

Temperatura (°C)	pH = 1		pH = 4.5	
	Absorbancia (510 nm)	Absorbancia (700 nm)	Absorbancia (510 nm)	Absorbancia (700 nm)
120	0.376 ± 0.050	0.008 ± 0.008	0.086 ± 0.004	0.016 ± 0.004
160	0.346 ± 0.029	0.004 ± 0.004	0.059 ± 0.017	0.002 ± 0.004
200	0.345 ± 0.043	0.010 ± 0.007	0.086 ± 0.010	0.015 ± 0.006
Concentrado	0.622 ± 0.017	0.011 ± 0.002	0.131 ± 0.006	0.012 ± 0.003
Polvo comercial	0.268 ± 0.008	0.018 ± 0.001	0.234 ± 0.014	0.079 ± 0.018

Para el cálculo del incremento de absorbancia al variar el pH de la muestra se utiliza la expresión, previamente explicada en el capítulo 3:

$$\Delta\text{Absorbancia} = (A_{510\text{nm}} \text{ pH } 1 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 1) - (A_{510\text{nm}} \text{ pH } 4.5 - A_{700\text{nm}} \text{ pH } 4.5)$$

$$C \text{ (mg/L)} = \Delta A / \epsilon L \times M \times 10^3 \times D$$

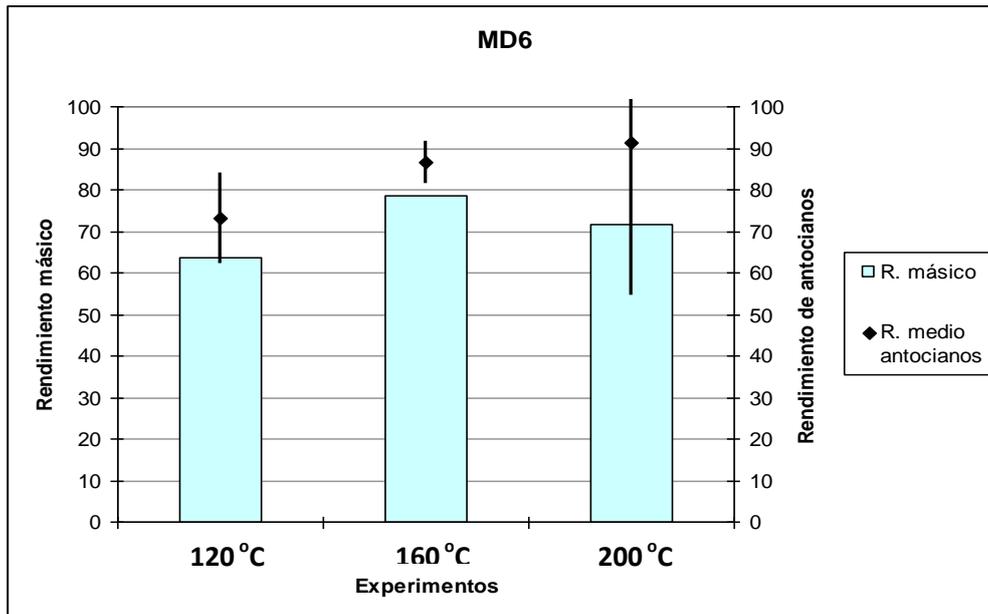
Para calcular el rendimiento de antocianos se ha utilizado la siguiente expresión:

$$\eta_{\text{antocianos}} = \frac{\text{concentración de antocianos polvo} * \text{g polvo seco obtenido}}{\text{concentración antocianos concentrado} * \text{g concentrado}} \times 100 \quad (5)$$

En esta expresión se dividen los gramos totales de antocianos obtenidos en un experimento de secado entre los gramos totales presentes en la disolución a secar. Si no ha habido destrucción de estas moléculas en el proceso de secado, el rendimiento de antocianos debe ser similar al rendimiento másico del experimento.

Tabla 28: Rendimiento de antocianos para la maltodextrina 6.

Temperatura (°C)	Polvo seco (g)	C promedio (mg/L)	Rendimiento másico	Rendimiento antocianos	Desviación típica
120	11.97	4.11	63.69	72.98	10.88
160	14.79	4.14	78.70	86.47	5.02
200	13.49	3.83	71.74	91.36	36.88
Concentrado		7.31			
Polvo comercial		1.47			



Gráfica 13: Rendimientos de antocianos.

Podemos concluir en vista a los resultados obtenidos, que las altas temperaturas no han afectado a la estabilidad de los antocianos. Esto parece indicar que los tiempos de residencia empleados en el secado por atomización son tan pequeños ($\tau = 1s$) que no tiene lugar la degradación de los antocianos. También se observa que el polvo comercial posee una pequeña concentración de antocianos, que puede ser debido a que este polvo comercial este fabricado con granada que no está madura. Este polvo comercial es más oscuro que los microencapsulados obtenidos experimentalmente, lo que puede deberse a un aditivo que se haya añadido para aumentar el color.



Figura 51: En la figura se puede observar la diferencia entre los microencapsulados de zumo de granada comercial y los obtenidos en el laboratorio.

❖ **Contenido de antocianos en microencapsulados con nutriosa**

Se realiza el análisis de antocianos en los experimentos realizados con nutriosa como encapsulante, para verificar que la temperatura no afecta a la desaparición de los grupos funcionales contenidos en los microencapsulados del zumo de granada.

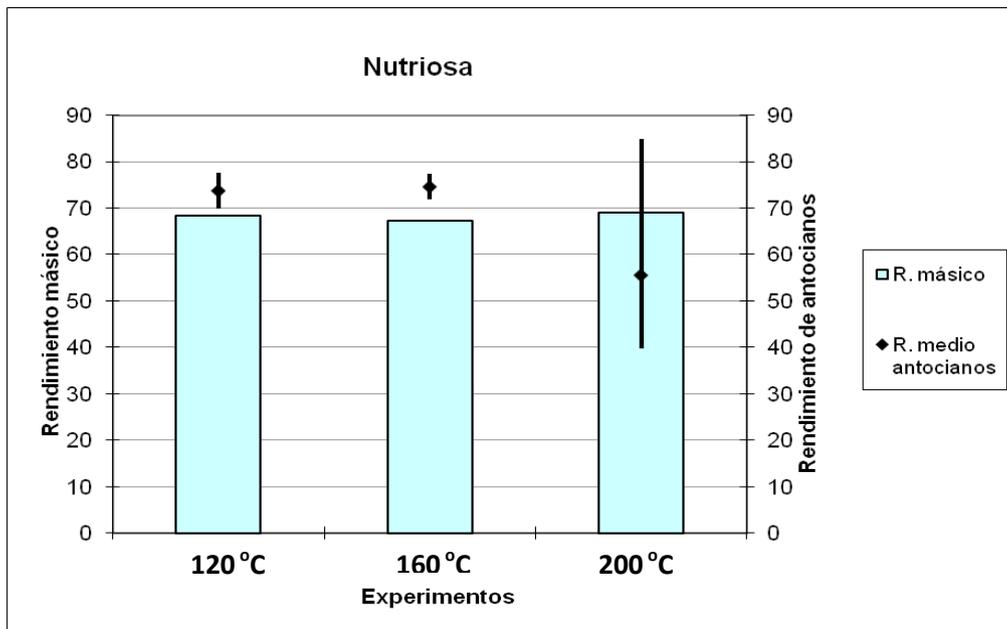
Tabla 29: Resultados experimentales.

Temperatura (°C)	pH = 1		pH = 4.5	
	Absorbancia (510 nm)	Absorbancia (700 nm)	Absorbancia (510 nm)	Absorbancia (700 nm)
120	0.307 ± 0.011	0.004 ± 0.002	0.069 ± 0.003	0.006 ± 0.011
160	0.270 ± 0.005	0.000 ± 0.000	0.037±0.007	0.000 ± 0.000
200	0.297 ± 0.006	0.000 ± 0.000	0.059±0.002	0.004 ± 0.001

Tabla 30: Rendimiento de antocianos.

Temperatura (°C)	Polvo seco (g)	C promedio (mg/L)	Rendimiento másico	Rendimiento antocianos	Desviación típica
120	13.86	3.70	68.41	73.74	3.75
160	14.02	3.58	67.15	74.58	2.74
200	10.44	3.65	68.98	55.52	29.22

Igual que pasaba con la maltodextrina, empleando nutriosa como encapsulante se observa que las altas temperaturas no han afectado a la estabilidad de los antocianos.



Gráfica 14: Rendimiento de antocianos.

4.3.2. Análisis de fenoles totales

❖ Análisis de fenoles totales en microencapsulados con maltodextrina 6

El análisis de los fenoles existentes en los microencapsulados de zumo de Granada, se lleva a cabo a través del método espectrofotométrico, consistente en una reacción colorimétrica redox. Este análisis sólo se realiza para los experimentos en los que la relación encapsulante/zumo, el agente encapsulante y la dilución es la ideal.

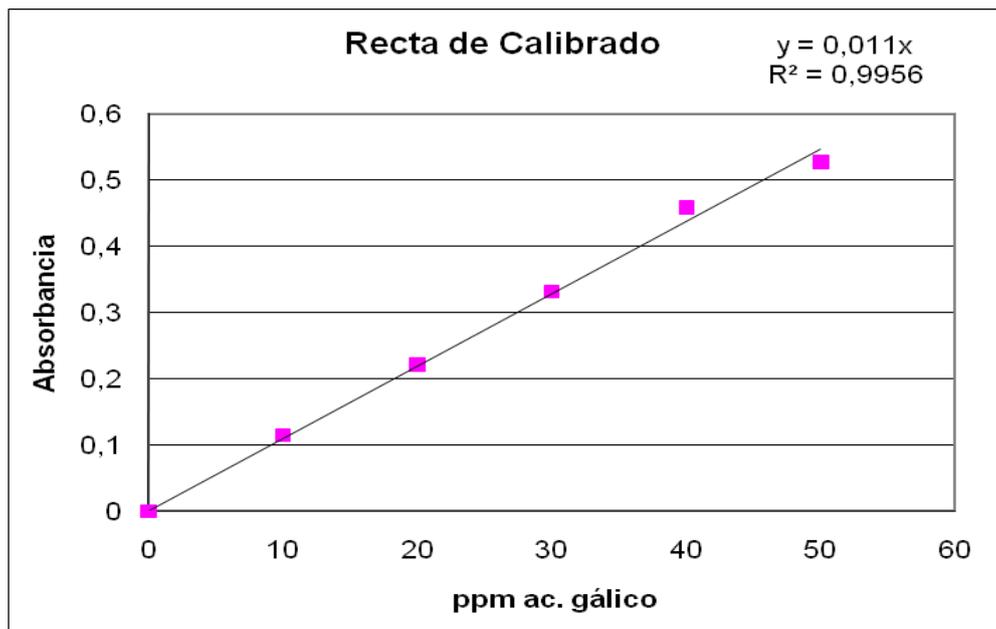
Tabla 31: Condiciones experimentales.

Temperatura (°C)	Caudal bomba atomización (L/h)	Caudal Aspiración (%)	Zumo concentrado (g)	Encapsulante (g)	Grado dilución
200-160-120	0.72	80	10	12.5	25

Tal y como se explica en el capítulo “Materiales y Métodos”, es necesario realizar una recta de calibrado, la cual nos permite expresar la absorbancia de la muestras en función de la concentración de ácido gálico. En la tabla se muestra la recta de calibrado.

Tabla 32: Absorbancias correspondientes a la recta de calibrado.

Concentración Ácido gálico (ppm)	Absorbancia (760 nm)
0	0.000
10	0.115
20	0.221
30	0.332
40	0.458
50	0.527



Gráfica 15: Recta de Calibrado.

Una vez realizada dicha recta de calibrado, se procede a la medida de la absorbancia por triplicado de cada una de las muestras y por interpolación se calcula la concentración de la muestra.

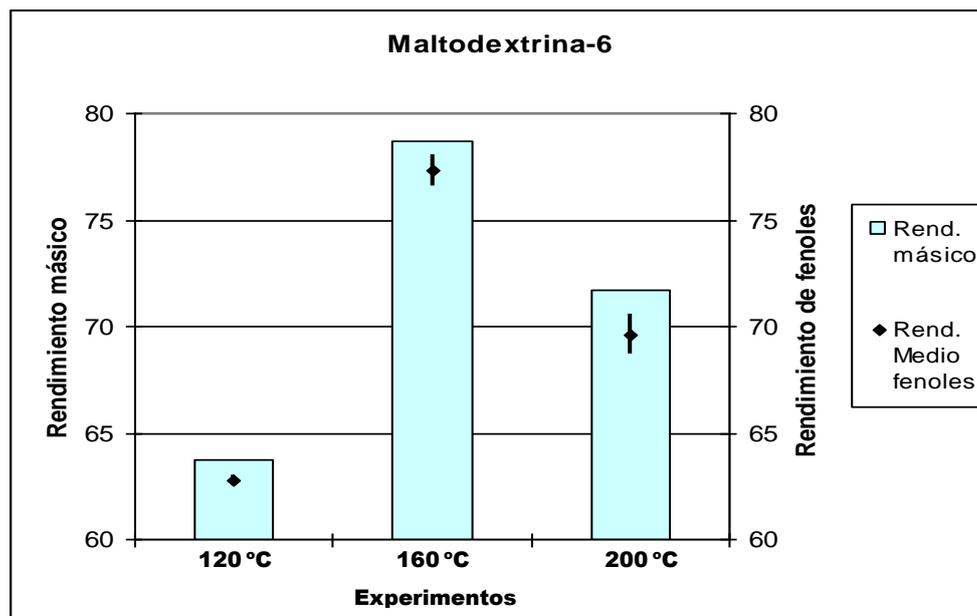
Tabla 33: Absorbancias obtenidas con el método espectrofotométrico.

	Absorbancia	Absorbancia media	Concentración (ppm)
120 °C	0.477		
	0.410	0.462 ± 0.046	42.03
	0.499		
160 °C	0.493		
	0.400	0.460 ± 0.052	41.90
	0.489		
200 °C	0.445		
	0.483	0.455 ± 0.024	41.39
	0.437		
Concentrado	0.381		
	0.300	0.352 ± 0.045	32.07
	0.376		
Polvo comercial	0.861		
	0.771	0.815 ± 0.045	74.11
	0.812		
MD 6	-1.96E-02		
	-5.72E-02	0.000 ± 0.041	0.00
	0.026		

Al igual que hicimos en las medidas de contenido en antocianos, se calcula el rendimiento de fenoles totales dividiendo los gramos totales de fenoles obtenidos en un experimento de secado entre los gramos totales presentes en la disolución a secar. Si no ha habido destrucción de estas moléculas en el proceso de secado, el rendimiento de fenoles debe ser similar al rendimiento másico del experimento.

Tabla 34: Rendimiento de fenoles totales.

	Absorbancia media	mg/L ac.gálico	mg/g	Polvo seco (g)	η	η peso
120 °C	0.462 ± 0.046	42.03	8.40	11.97	62.76 ± 0.28	63.69
160 °C	0.460 ± 0.052	41.90	8.38	14.79	77.31 ± 0.75	78.70
200 °C	0.455 ± 0.024	41.39	8.27	13.48	69.61 ± 0.95	71.74
Concentrado	0.352 ± 0.045	32.07	16.03			
Polvo comercial	0.815 ± 0.045	74.11	14.82			
MD 6	0.000 ± 0.041	0.00	0.00			



Gráfica 16: Rendimiento de fenoles.

En vista de los resultados, se puede concluir que los fenoles no desaparecen tras el secado del zumo de granada y, por otra parte, también se observa que la maltodextrina no interfiere en la determinación de fenoles.

En la bibliografía (Artés et col., 1999) se encuentra que el contenido de fenoles en el zumo de granada (exprimido en laboratorio y comercial) calculados por el método Folin- Ciocalteu, están en el mismo rango que el vino tinto (generalmente sobre 2000 mg/L). Por otro lado, el análisis cromatográfico del mismo estudio demuestra que el contenido de fenoles en el zumo comercial es mayor (2500 mg/L) que el contenido de fenoles en el zumo producido en el laboratorio a partir de los granos (1800-2100 mg/L).

❖ **Análisis de fenoles totales en microencapsulados con nutriosa**

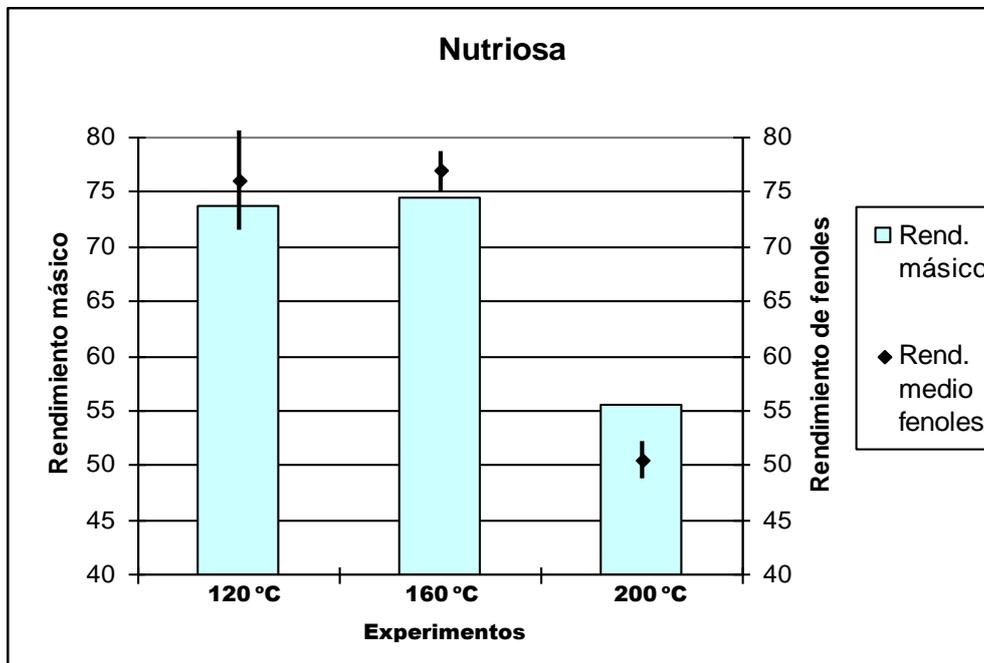
Repetimos el mismo procedimiento realizado en el apartado anterior “Análisis de fenoles totales para la maltodextrina 6”, pero en este caso se toman los experimentos realizados con el agente encapsulante nutriosa, realizándose sólo para los experimentos en las condiciones óptimas.

Tabla 35: Absorbancias obtenidas con el método espectrofotométrico.

	Absorbancia	Absorbancia media	Concentración (ppm)
120 °C	0.491		
	0.483	0.462 ± 0.007	42.03
	0.476		
160 °C	0.495		
	0.467	0.460 ± 0.014	41.90
	0.489		
200 °C	0.420		
	0.467	0.455 ± 0.035	41.39
	0.489		
Nutriosa	-7.21E-03		
	-1.60E-02	0.000 ± 0.021	0.00
	0.025		

Tabla 36: Rendimiento de fenoles totales.

	Absorbancia media	mg/L ac.gálico	mg/g	Polvo seco (g)	η	η peso
120 °C	0.483 ± 0.007	43.97	8.79	13.86	76.01 ± 4.55	73.74
160 °C	0.484 ± 0.014	44.00	8.80	14.01	76.94 ± 1.79	74.58
200 °C	0.425 ± 0.035	38.71	7.74	10.43	50.39 ± 1.74	55.52
Nutriosa	0.000 ± 0.021	0.00	0.00			



Gráfica 17: Rendimiento de fenoles.

En vista de los resultados, se puede concluir que los fenoles no desaparecen tras el secado del zumo de granada, y, por otra parte, también se observa que ambos agentes de encapsulantes no interfieren en la determinación de fenoles, como ya se suponía con anterioridad.

4.3.3. Análisis de la actividad antioxidante

Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Así podemos definir un antioxidante como una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Las reacciones de oxidación, pueden producir radicales libres, pudiendo provocar reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación, oxidándose ellos mismos.

El método elegido para estudiar la actividad antioxidantes del zumo de granada es el método TEAC (Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox), que consiste en la reducción del catión $ABTS^{\cdot+}$ causada por la presencia de moléculas antioxidantes.

En este análisis se sigue el protocolo detallado en el capítulo de “Materiales y Métodos”.

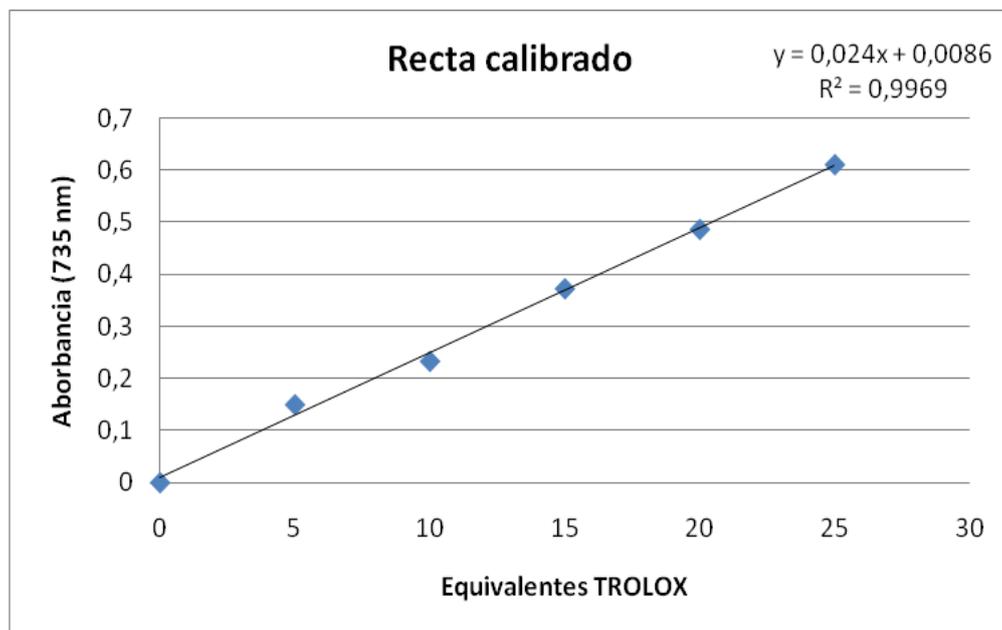
El estudio comienza con la generación del radical $ABTS^{\cdot+}$. Midiendo su absorbancia a 735 nm, ésta nos da un valor de 0.8321. Para conseguir una concentración de éste con una absorbancia entre 0.6 y 0.8 se ha utilizado una concentración de peróxido de hidrógeno 40 μ M, de peroxidasa 50 nM, y de $ABTS^{\cdot+}$ 0.4 mM, en 3 mL de mezcla a pH= 5.0

A continuación se realiza su neutralización con distintas disoluciones de agente antioxidante trolox, construyendo la recta de calibrado mediante la representación de la disminución de absorbancia frente a la concentración de trolox, tal y como se muestra en la tabla:

Tabla 37: Absorbancias correspondientes a la recta de calibrado.

Concentración TROLOX (μM)	Δ Absorbancia
0	0.000
5	0.149
10	0.232
15	0.371
20	0.485
25	0.609
30	0.795
35	Pérdida total de color
40	Pérdida total de color

Esta recta de calibrado permite obtener la concentración de antioxidante (en equivalentes de trolox) de la muestra problema, a partir de la medida de la pérdida de absorbancia del ABTS.+ a 735 nm.



Gráfica 18: Recta de calibrado.

Se procede entonces a la medida de la actividad antioxidante en el concentrado de granada, en algunas muestras de microencapsulado obtenidas a distinta temperatura y en el polvo comercial. Para ello, se realizaron diferentes ensayos de dilución de la muestra hasta conseguir que la mezcla de 30 μ L de ésta con el radical ABTS produzca disminución en el color del radical, pero no total, lo que nos permite localizar la pérdida de absorbancia en la recta de calibrado.

Esto se consiguió partiendo de las siguientes disoluciones:

Tabla 38: Diluciones correspondientes a los distintos experimentos.

Experimento	Factor de dilución
Zumo exprimido	5
Concentrado	1 g en 50 mL
Polvo comercial	1.89 g en 100 mL
Polvo temperatura 160 °C	1.89 g en 50 mL
Polvo temperatura 200 °C	1.89 g en 50 mL



Figura 52: Cambio de color producido en la experimentación.

Finalmente, se deja reaccionar durante media hora. Transcurrido este tiempo se mide la absorbancia de cada uno de los experimentos con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 735 nm.

Experimento	Dilución	Δ Absorbancia	Equivalentes TROLOX (μ M)	Concentración TROLOX de la muestra original	Unidades de concentración
Zumo exprimido	5	0.295	11.84	59.207	M
Concentrado	1g/50 mL	0.502	20.68	1.034	Moles Trolox/Kg
Polvo comercial	1.89 g/100mL	0.6034	25.01	1.323	Moles Trolox/Kg
Polvo temperatura 120 °C	1.89 g/50mL	0.379 \pm 0.026	15.86	0.419	Moles Trolox/Kg
Polvo temperatura 160 °C	1.89 g/50mL	0.352 \pm 0.002	14.59	0.386	Moles Trolox/Kg
Polvo temperatura 200 °C	1.89 g/50mL	0.384 \pm 0.012	16.09	0.425	Moles Trolox/Kg

Tabla 39: Resultados experimentales.

Se observa una capacidad antioxidante del concentrado bastante mayor que la del zumo de granada exprimido, teniendo en cuenta que aplicando un factor de dilución de 4 al concentrado obtendríamos un zumo de los mismos grados brix que el natural.

Por otro lado, el polvo comercial tiene casi el doble de capacidad antioxidante que hemos preparado. Esto puede ser debido al empleo de menor relación agente encapsulante/concentrado o el uso de aditivos antioxidantes en la preparación del polvo comercial. También puede haber diferencias en el tipo de granada utilizadas para la preparación del polvo comercial y el concentrado, o a la diferencia en la forma de obtener el producto, según se utilicen sólo los granos o la granada completa, que tiene un poder antioxidante muy alto en los tegumentos y en la corteza (alto contenido en taninos).

La obtención de la capacidad antioxidante de nuestros microencapsulados y el concentrado de partida nos permite calcular el rendimiento en capacidad antioxidante del proceso de secado, según la relación:

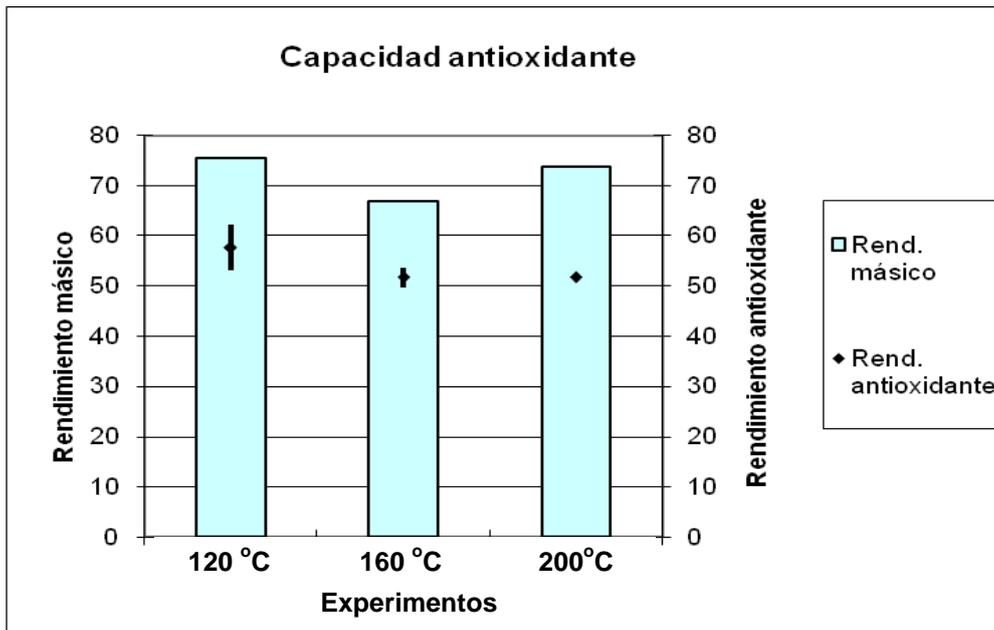
$$\eta_{\text{antioxidante}} = \frac{\text{g concentrado} * \text{capacidad antiox. concentrado}}{\text{g polvo obtenidos} * \text{capacidad antiox. polvo}} \quad (6)$$

Lo que nos da un rendimiento antioxidante bastante menor que el rendimiento másico del proceso, como se muestra en la tabla 40. Se observa que el rendimiento en capacidad antioxidante es inferior en más de 10 puntos del rendimiento másico del secado. Sin embargo, las mayores diferencias no se observan a las temperaturas más altas.

Tabla 40: Capacidad antioxidante de las muestras.

Experimento	Concentración TROLOX	Polvo seco (g)	η másico	η antiox.
Concentrado	1.034 Moles/Kg			
Polvo temperatura 120 °C	0.419 Moles/Kg	14.20	75.58	57.6 ± 4.6
Polvo temperatura 160 °C	0.386 Moles/Kg	13.85	73.73	51.4 ± 0.44
Polvo temperatura 200 °C	0.425 Moles/Kg	12.55	66.78	51.3 ± 1.9

Por lo que podemos decir que en el proceso de secado se ha perdido algo de capacidad antioxidante, independientemente de la temperatura empleada en el proceso. Tal y como se observa en la gráfica 19.



Grafica 19: Capacidad antioxidante.

4.3.4. Análisis de las muestras con el HPLC

Se han realizado análisis cromatográficos para tratar de identificar los compuestos fenólicos más abundantes de la granada. El análisis se lleva a cabo con el HPLC modelo Waters 717 plus, preparando las muestras a analizar tal y como se detalla en el capítulo “Materiales y Métodos”.

Se han realizado análisis del concentrado de partida y de algunos de los microencapsulados obtenidos en diferentes condiciones de temperatura, para corroborar la permanencia de los compuestos tras el proceso de secado.

Tabla 41: Condiciones en que se obtuvieron las distintas muestras introducidas en el HPLC.

Temperatura (°C)	Caudal bomba atomización (L/h)	Caudal Aspiración (%)	Zumo concentrado (g)	Encapsulante (g)	Grado dilución
200-160-120	0.72	80	10	12.5	25

Se ha intentado tomar las muestras lo más concentradas posible, para lo cual las muestras de polvo se han preparado disolviendo 5 g de éste en 10 ml de disolución. Por otro lado, para emplear una concentración equivalente con el concentrado, se han diluido 2.6 g de éste en 10 ml.

Una vez preparada la muestra, se han introducido 50 µL en el equipo y se realiza el cromatograma, que se muestra en la figura 53.

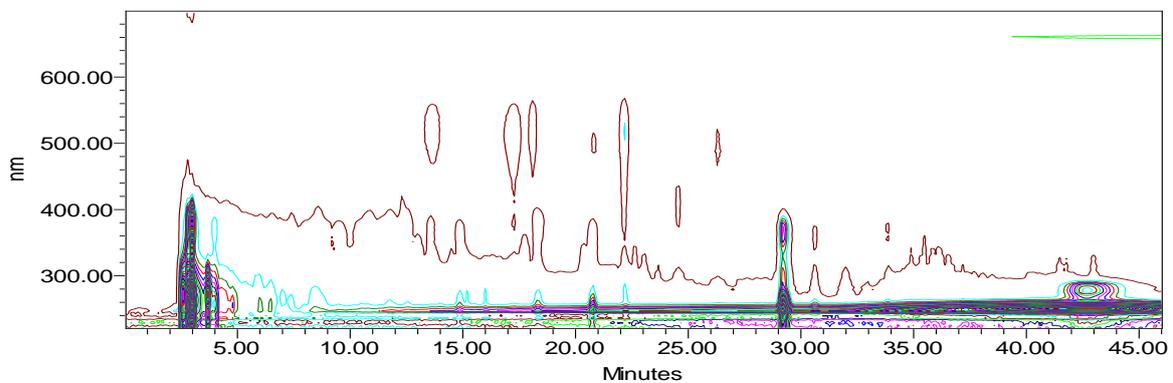


Figura 53: Cromatograma obtenido con el detector de fotodiodos (PDA).

❖ Identificación de los antocianos

Como vemos, se observan algunas zonas de absorción de radiación en torno a 520 nm, correspondientes a la absorción de los antocianos presentes en el zumo.

Fijando la longitud de onda en 520 nm, obtenemos el perfil de absorción que se muestra en la figura.

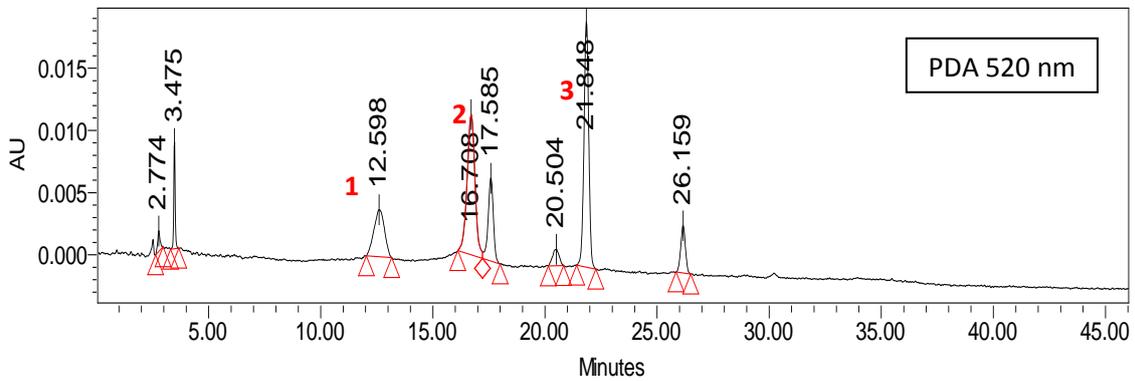


Figura 54: Perfil de los antocianos presentes en la granada.

Para la identificación del tipo de antociano correspondiente a cada pico del cromatograma se tiene en cuenta el tiempo de retención y el espectro en ultravioleta visible, así como los datos de análisis obtenidos de la bibliografía (Barberán et col., 1999). De acuerdo con todo ello, pensamos que el primer pico, que aparece a 12.60 minutos, corresponde al delfinidina-3,5-diglucósido, y los picos que aparecen a 16.70 y 21.85 minutos son debidos a derivados de la cianidina, concretamente, el 3,5-diglucósido y el 3-glucósido respectivamente.

Tabla 42: Propuesta de identificación de los antocianos presentes en la granada.

Número de identificación	Tiempo retención (min)	Longitud onda máxima absorbancia	Antociano
1	12.598	520.1	DP 3,5-diglu.
2	16.708	278.0 512.9	CY 3,5-diglu
3	21.848	279.2 512.8	CY 3-glu.

En la siguiente figura se pueden ver individualmente los espectros de absorción UV-Visible de los tres antocianos más abundantes.

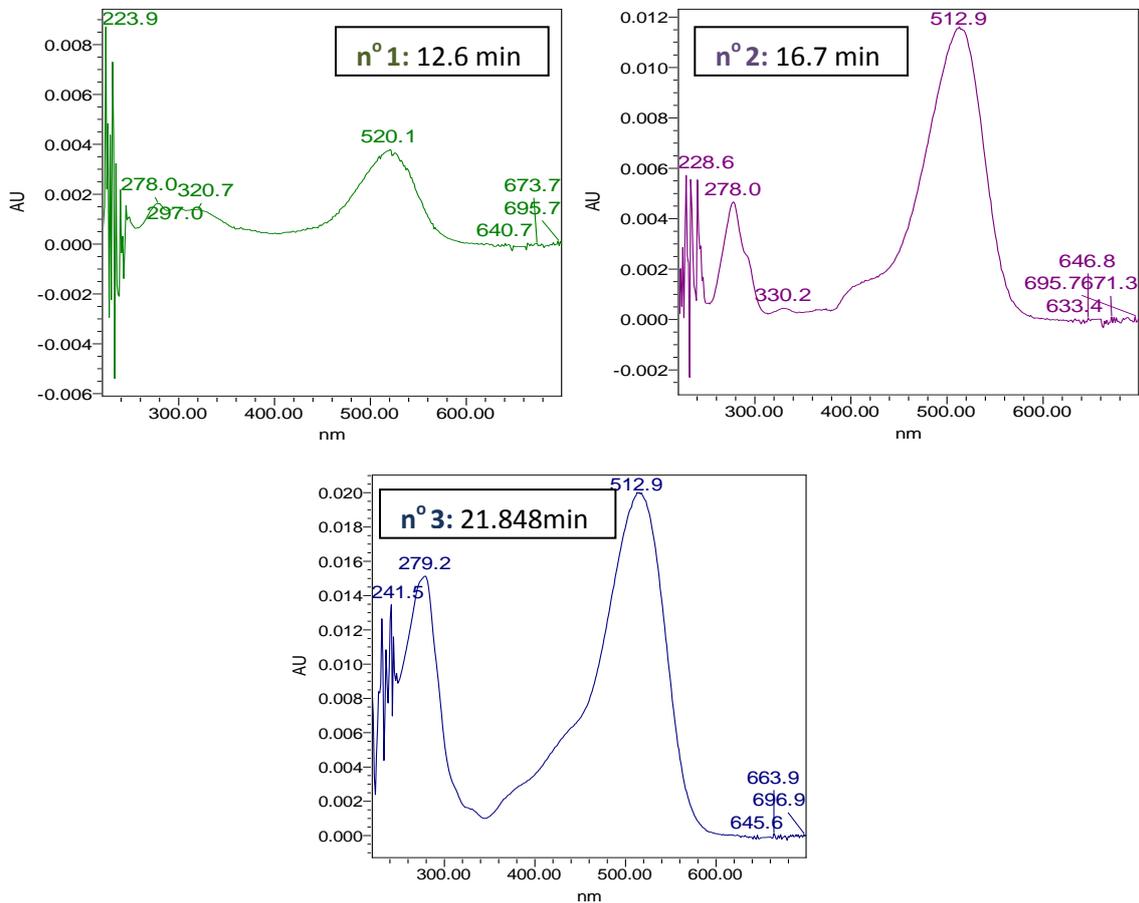
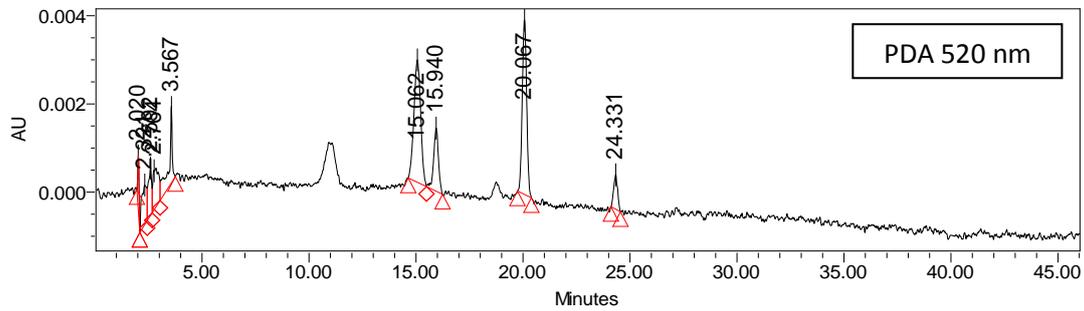


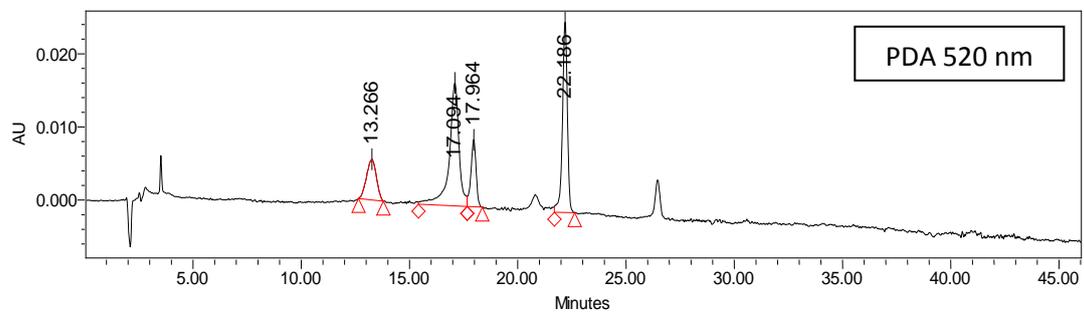
Figura 55: Espectros individuales de absorción UV-Visible de los antocianos más abundantes.

Por otro lado, observando los cromatogramas que se obtienen en los polvos reconstituidos, podemos afirmar que se observa la permanencia de todos los antocianos en los zumos secados a todas las temperaturas ensayadas (120 °C, 160 °C y 200 °C).

Experimento 29 - 200 grados



Experimento 26 - 160 grados



Experimento 7 - 120 grados

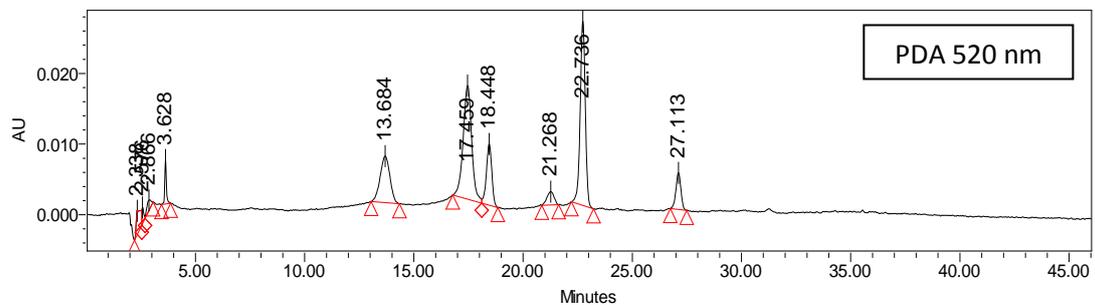


Figura 57: Cromatograma de los polvos reconstituidos.

❖ **Identificación de los polifenoles**

Para la identificación de los polifenoles, extraemos el perfil absorbancias a la longitud de onda de 260 nm, que se muestra en la figura 58.

En el caso de los polifenoles de la granada, el gradiente que se ha utilizado para la fase móvil no consigue separar suficientemente algunos de los compuestos que deseamos identificar. Sería recomendable ensayar otros gradientes, e incluso otros disolventes en las fases móviles utilizadas (Gil y col., 2000).

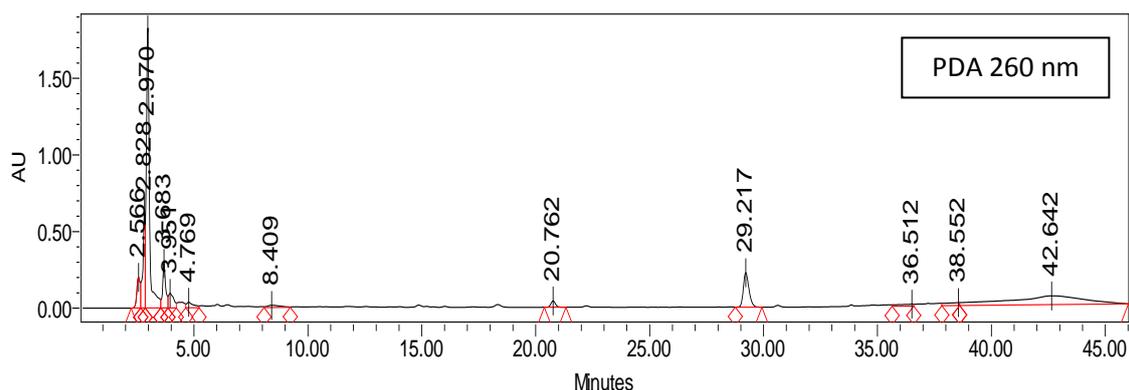


Figura 58: Perfil de los polifenoles presentes en la granada.

En la tabla 43 se muestran los picos más importantes encontrados en el cromatograma a 260 nm. Como vemos, antes de 4 minutos han salido la mayoría de los compuestos, quedando un pico importante a 29.2 minutos.

El estudio y comparación de sus espectros de absorción con los que se presentan en el artículo de Gil y col (2000) nos permite intuir que los picos que aparecen a 2.825 y 3.958 corresponden al punicalagin, que se presenta en dos formas isoméricas que aparecen a tiempos de retención diferentes. El primer pico importante que obtenemos, a 2.975 min también tiene un espectro de absorción muy parecido al punicalagin.

Podríamos tener en estos tres picos los dos isómeros del punicalagin y un derivado de alguno de ellos. En la figura 60 se presentan los espectros de estas sustancias superpuestas. Se muestra la coincidencia de espectros al variar la escala de absorbancias.

Por otro lado, el pico que aparece a los 3.675 min presenta un espectro de absorción con un único pico en 271 nm. Su forma es similar al galoilglucosa, o bien al tanino hidrolizable mencionado en el artículo de Gil y col. Al igual que ocurre con los otros picos mencionados, habría que aplicar un análisis de espectrofotometría de masas para confirmar de qué especies se trata.

Finalmente, el compuesto que aparece a los 29.2 minutos corresponde a ciencia cierta al ácido elágico o a su derivado glicosilado, presentes ambos en el zumo de granada, con un espectro de absorción muy característico.

Tabla 43: Tiempo de retención de los distintos polifenoles.

Número de identificación	Tiempo retención (min)	Longitud onda máxima	Absorbancia máxima
1	2.825	260.3 377.7	0.64418
2	2.975	259.2 378.9	1.83184
3	3.675	271.0	0.34487
4	3.958	258.0 372.9	0.09669
5	29.208	253.3 366.9	0.28180

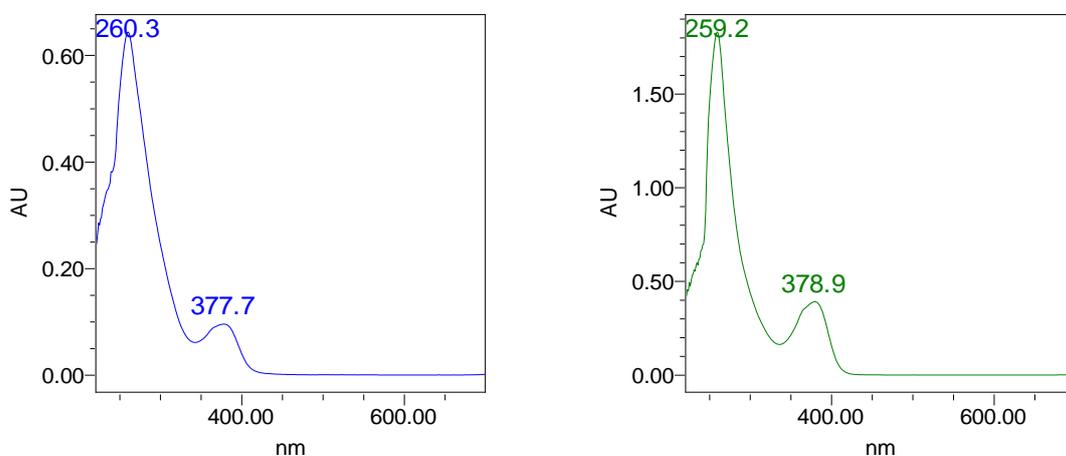


Figura 59: Espectros correspondientes a los picos más importantes a 260 nm.

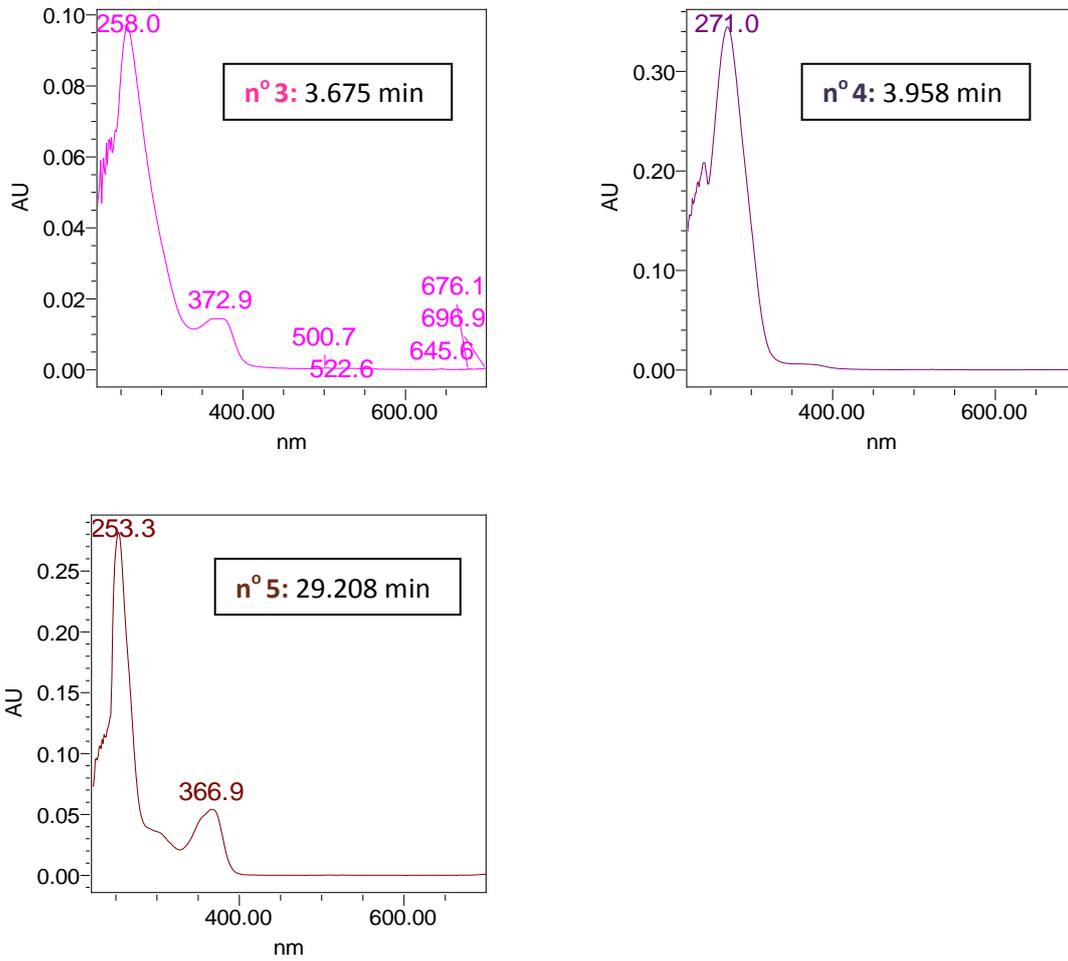


Figura 59: Espectros correspondientes a los picos más importantes a 260 nm.

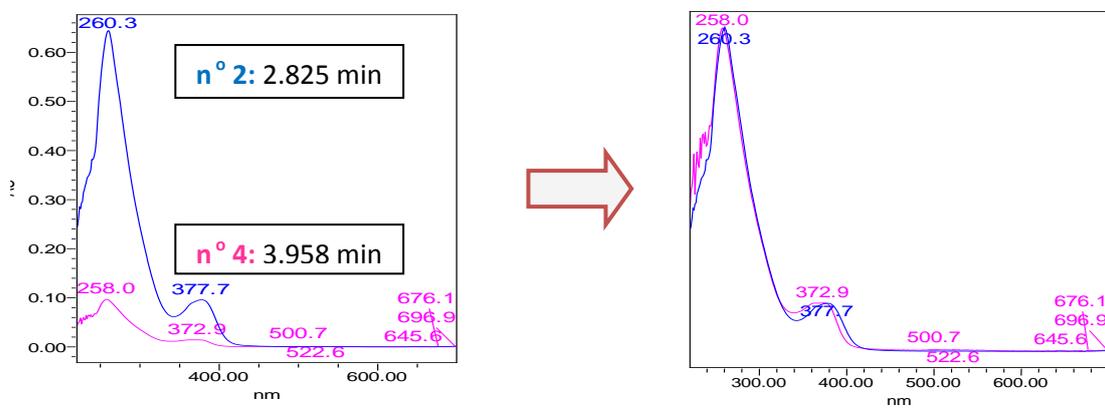


Figura 60: Comparación de los espectros encontrados a 2.825, 2.975 y 3.958 minutos con su absorbancia original y haciendo un escalado de los mismos.

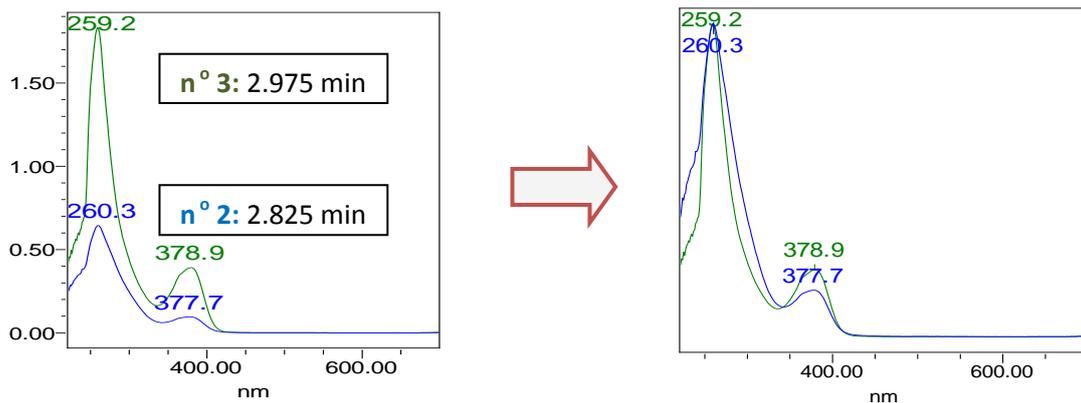


Figura 60: Comparación de los espectros encontrados a 2.825, 2.975 y 3.958 minutos con su absorbancia original y haciendo un escalado de los mismos.

Se han identificado las mismas sustancias en los cromatogramas de los polvos analizados. No los mostramos aquí debido a que la superposición de los picos a tiempos muy cortos no permite apreciar con claridad los detalles.

4.3.5. Densidad aparente y test de disolución

Se puede obtener información adicional de los microencapsulados, si se realizan experimentos de densidad aparente y test de disolución. Con el primer tipo de análisis podemos determinar si la partícula obtenida es grande, es decir, según la bibliografía la densidad aparente está en torno a 0.6-0.8 mg/mL. Un descenso de ésta da idea de una partícula muy grande y esponjosa. En cuanto al test de disolución, nos da idea del grado de solubilidad del producto.

A continuación se muestran los resultados medidas de densidad aparente y tiempo de disolución aplicadas a microencapsulados obtenidos para distintas proporciones de agente encapsulante/zumo, tanto con maltodextrina como con nutritosa, en las condiciones de secado que se especifican en la tabla.

Tabla 44: Condiciones experimentales.

Temperatura (°C)	Caudal de aspiración (%)	Caudal bomba atomización (L/h)	Zumo concentrado (g)	Grado dilución
160	80	0.72	10	25

Tabla 45: Cálculos de densidad aparente y test de disolución.

Experimento	Densidad aparente (mg/mL)	Tiempo disolución (s)
MD/zumo = 1.00	0.5339	90
MD/zumo = 1.25	0.5386	105
MD/zumo = 1.50	0.6102	80
Nutriosa/zumo = 1.00	0.5237	78
Nutriosa/zumo = 1.25	0.5446	87
Nutriosa/zumo = 1.50	0.5621	100

En todos los casos se observa como la densidad aparente de las muestras en polvo analizadas se encuentra entre 0.50 y 0.60 g/mL, observándose que la densidad aparente aumenta ligeramente al aumentar la proporción de agente encapsulante utilizado. Estudios de secado por atomización de zumo de acerolas verdes utilizando como envoltante la maltodextrina, nos indican que la densidad aparente es de 0.5 g/mL (Righetto y Netto, 2005), los resultados obtenidos en este proyecto coinciden con estos valores.

En cuanto al tiempo de disolución, no se observan diferencias significativas entre los distintos experimentos, concluyendo que son productos sólidos de fácil disolución.

4.3.6 Análisis SEM y tamaño de partícula

Para correlacionar los resultados de rendimiento en peso obtenidos con diferentes relaciones encapsulante/zumo con la morfología de partícula, se realizaron fotografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) para la microencapsulados con maltodextrina 6 y con nutriosa.

En general, en las fotografías de microscopía electrónica de barrido podemos ver gran variedad en la forma y tamaño de las microcápsulas.

En las siguientes fotografías se observa cómo un alto caudal de alimentación (1.08 L/h), provoca un aumento del tamaño de partícula. Este aumento es debido a la mayor velocidad de alimentación, que da lugar a la entrada de más cantidad de producto. Por otra parte, comparando estos resultados con los experimentos realizados con un flujo de alimentación de 0.72 L/h, se aprecia claramente cómo el tamaño de la microcápsula es menor.

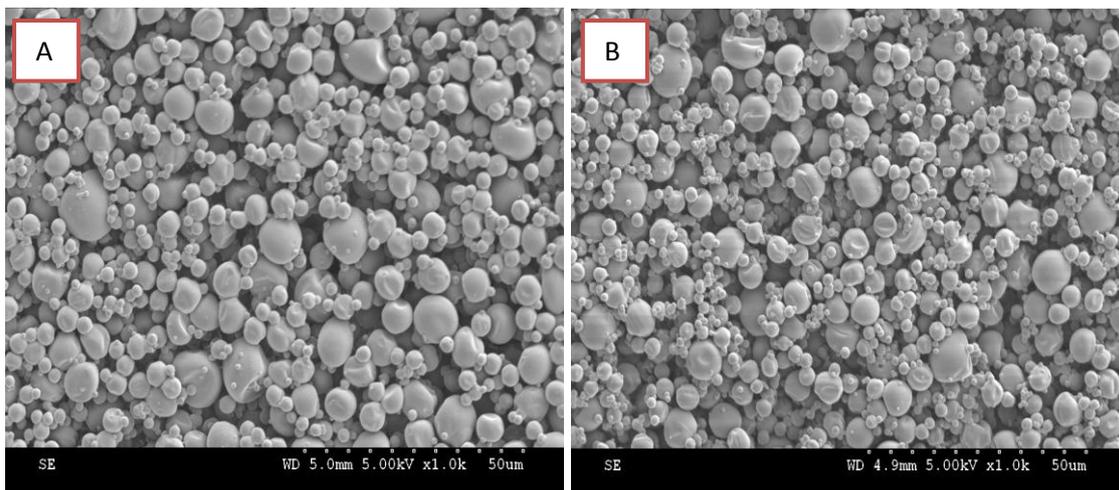


Figura 61: Imagen del producto en polvo obtenido con maltodextrina 6 a un caudal de alimentación de 1.08 L/h y 0.72 L/h, respectivamente, y una temperatura de 160 °C (x1000 aumentos).

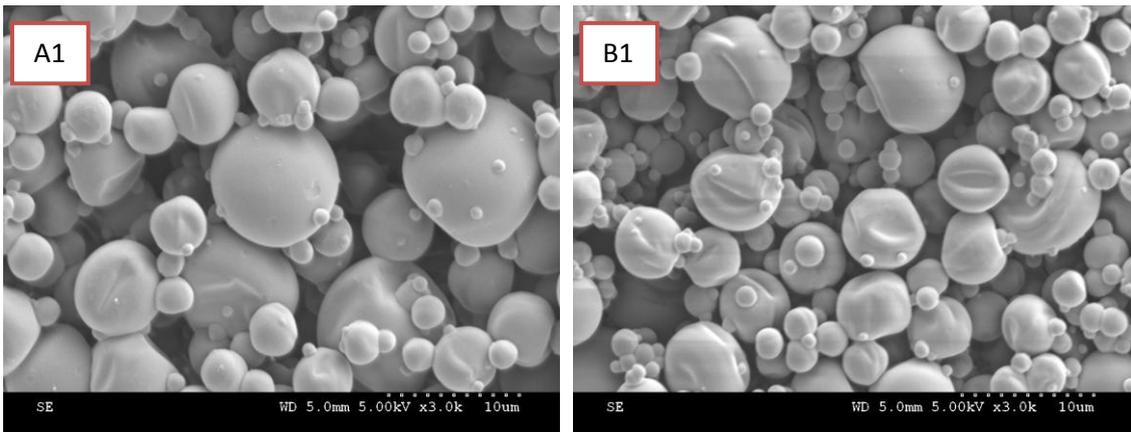


Figura 62: Imagen del producto en polvo obtenido con maltodextrina 6 a un caudal de alimentación de 1.08 L/h y 0.72 L/h, respectivamente, y una temperatura de 160 °C (x3000 aumentos).

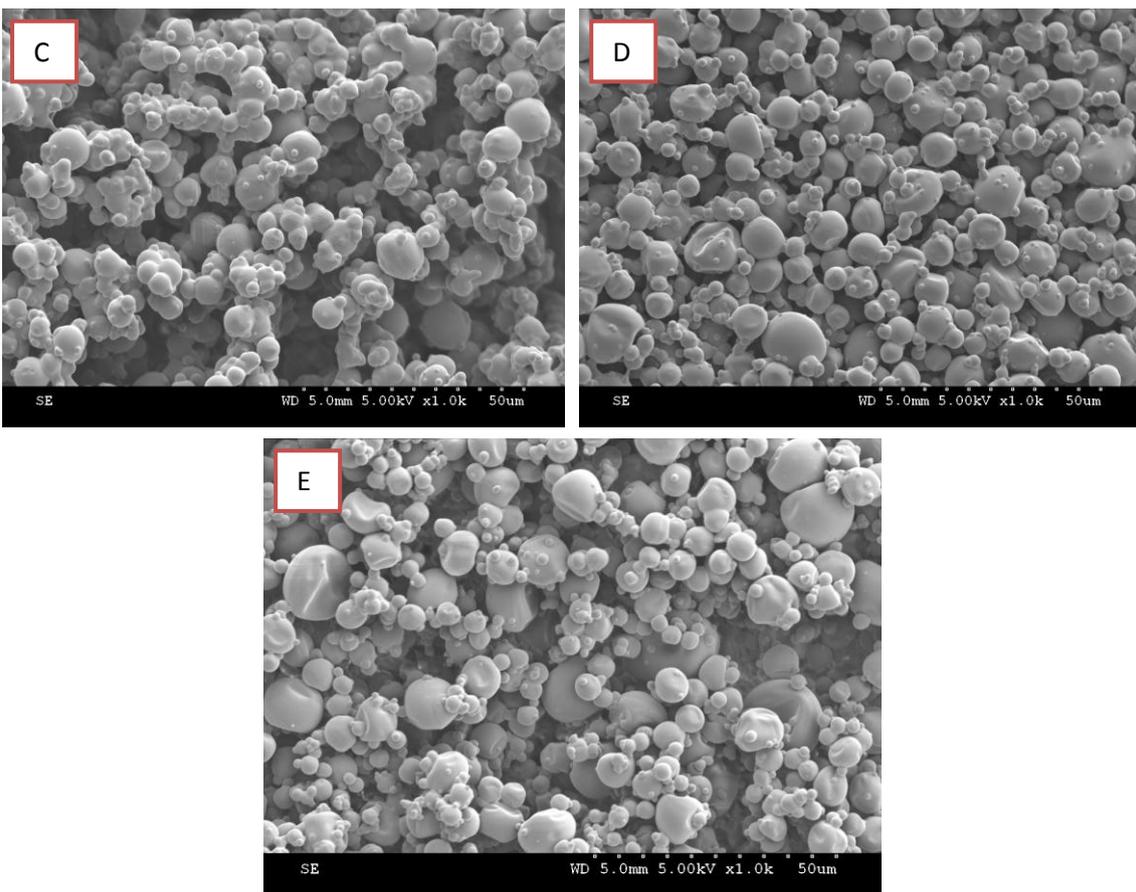


Figura 63: Imagen del producto en polvo obtenido con maltodextrina 6 a un caudal de alimentación de 0.72 L/h y a temperatura variable (200-160 -120 °C), respectivamente (x1000 aumentos).

De las fotografías de los encapsulados obtenidos con maltodextrina a diferentes temperaturas no podemos sacar unas conclusiones claras, salvo que, en estas muestras se observa un tamaño de gránulo más uniforme en la muestra obtenida a 160 °C.

Se han realizado también fotografías de algunas muestras obtenidas con utilizando nutriosa como agente encapsulante. Concretamente, se compararon microencapsulados con distinta proporción nutriosa/zumo (0.75, 1.0, 1.25 y 1.5). Se observa una mayor higroscopicidad de estos polvos, y que ésta disminuye al aumentar la proporción de nutriosa.

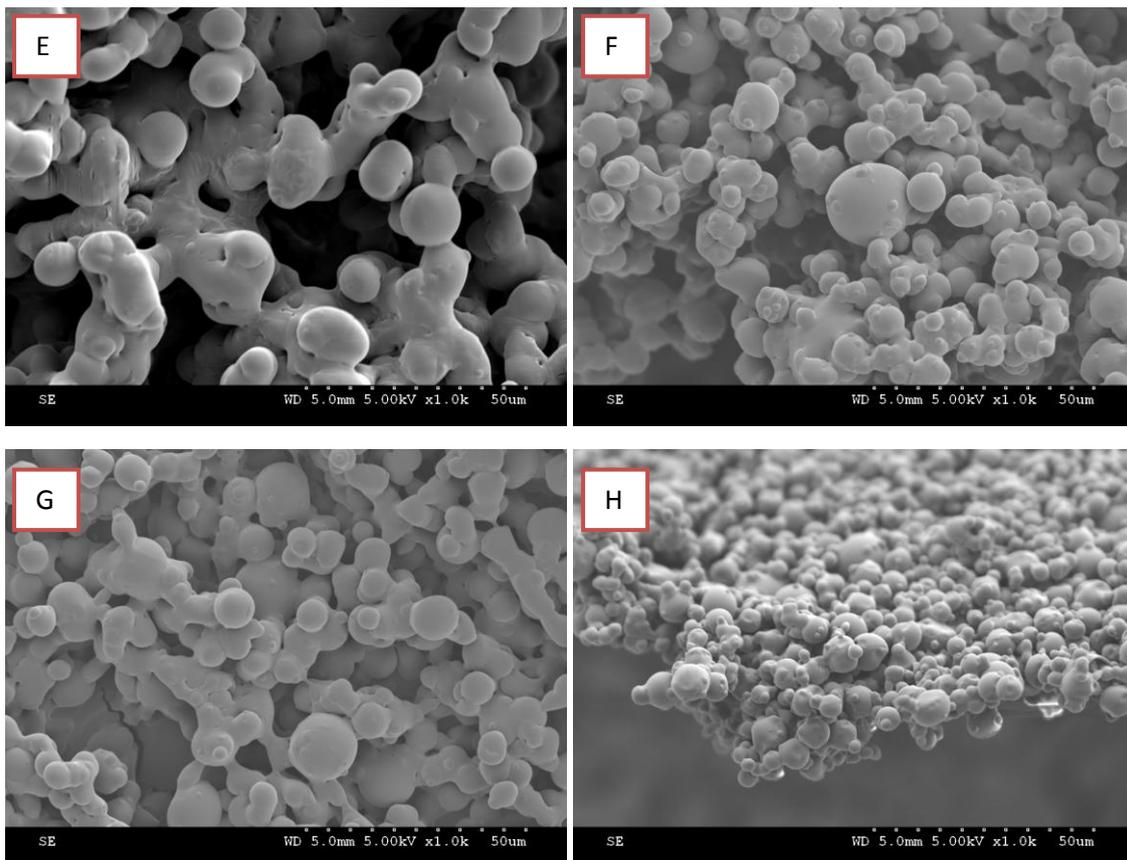
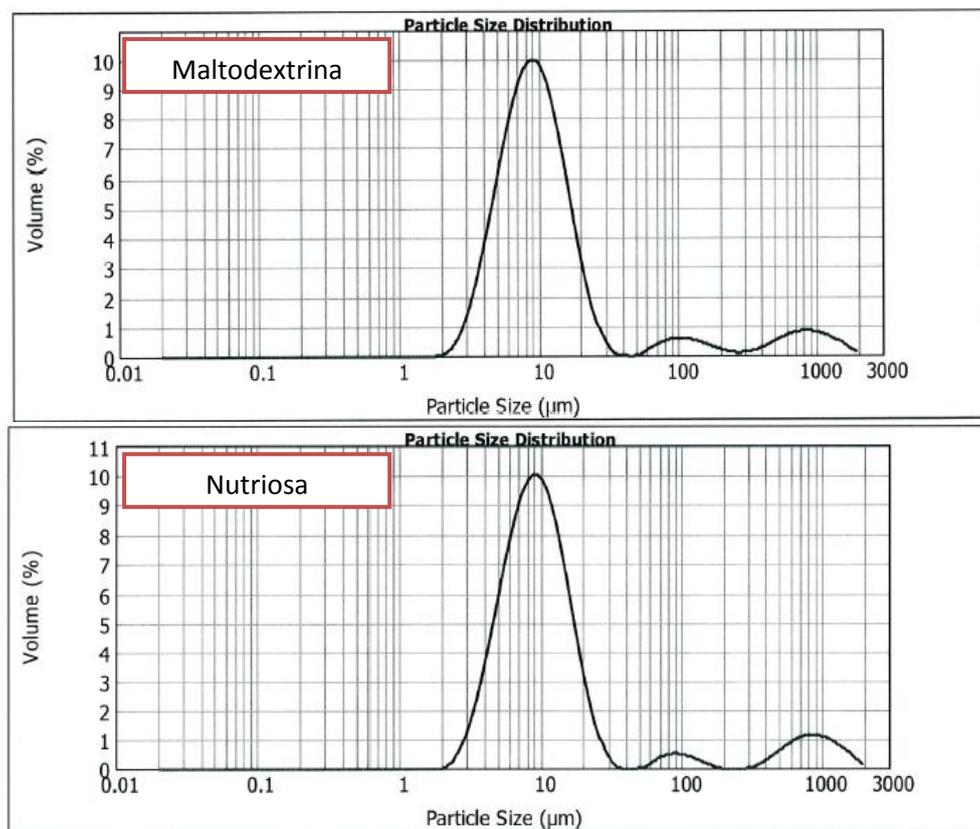


Figura 64: Imagen del producto en polvo obtenido con una relación encapsulante/zumo de granada de 0.75, 1.0, 1.25, 1.50 respectivamente y a un caudal de alimentación de 0.72 L/h y una temperatura de 160 °C (x1000 aumentos).

Estas imágenes nos sirven también para comprobar que se trata de esferas huecas con un diámetro en torno a las 10 micras.

La observación del tamaño de las partículas concuerda con los resultados obtenidos por medidas de tamaño de partículas por dispersión de la luz. Se realiza la dispersión del polvo en un disolvente en el que éstas permanecen sin disolverse. Se ha empleado en nuestro caso acetona. A continuación se realizan medidas de dispersión de un haz de luz que incide sobre la muestra. El análisis de la dispersión de la luz permite calcular la distribución de tamaños de las partículas presentes en el disolvente. Estos experimentos se llevaron a cabo en un Mastersizer 2000, de Malvern Instruments Ltd. (USA), y a continuación se muestran las distribuciones de tamaño de partícula obtenidas para dos muestras, una con maltodextrina y otra con nutriosa. El tamaño de partícula más abundante corresponde a unas 9 o 10 micras en ambas muestras.



Gráfica 20: Distribución del tamaño de partícula de los microencapsulados de maltodextrina 6 y nutriosa, respectivamente.

4.3.7. Análisis de higroscopicidad del producto seco

En este análisis se valora la higroscopicidad de los polvos obtenidos en condiciones ambientales habituales. Se compara la higroscopicidad de microencapsulados obtenidos a diferentes temperaturas y con diferentes agentes encapsulantes. La preparación de la muestra consiste en poner 2 g de las distintas muestras de polvo en sus correspondientes placas petri y tomar fotografías en días sucesivos, observándose los cambios que se producen y anotando las condiciones de humedad y temperatura. A continuación se muestran las fotografías correspondientes a cada día de observación. Las fotografías a tiempo cero son iguales a las de 24 h.

En el inicio del análisis, tal y como se aprecia en ambas fotografías, la muestra está intacta, sin ningún efecto producido por la humedad. Tras dos días de observación, podemos concluir que, las muestras en las que se utiliza como encapsulante nutritosa tienen mayor higroscopicidad que las muestras en las que se utiliza maltodextrina como encapsulante, es decir mayor pegajosidad. Además, no se observan diferencias de higroscopicidad si comparamos experimentos realizados con el mismo encapsulante a diferente temperatura.

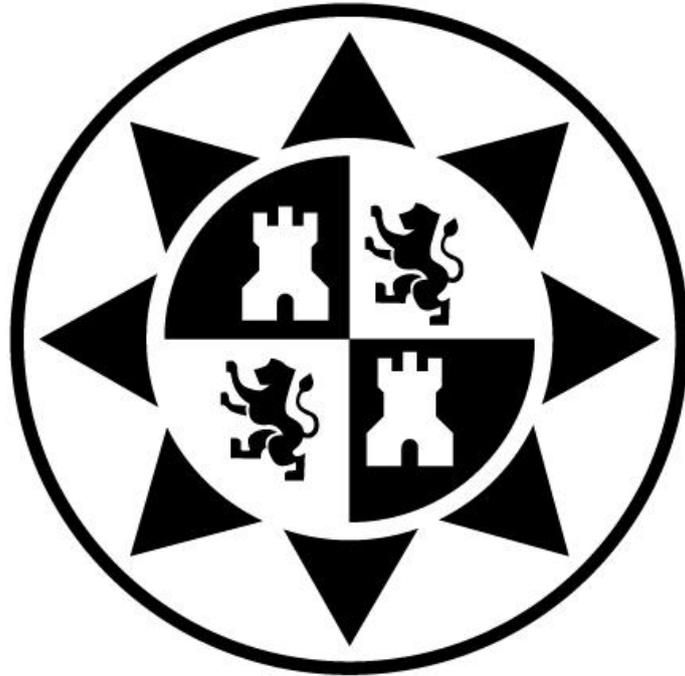
Los resultados obtenidos en este análisis ya eran previstos, en el análisis paralelo del SEM, puesto que en la preparación de las muestras para su observación se apreciaba como la muestra de nutritosa era embebida por la cinta de carbono del portamuestras.



Figura 65: Preparación de muestras para SEM. De izquierda a derecha, muestra de maltodextrina y nutritosa.

<p>Tiempo = 0 h Humedad = 55% Temperatura =25.7°C</p>		<p>Maltodextrina</p> <p>Nutriosa</p>
<p>Tiempo = 24 h Humedad = 52% Temperatura =26.5°C</p>		<p>Maltodextrina</p> <p>Nutriosa</p>
<p>Tiempo = 48 h Humedad = 66% Temperatura =22.6°C</p>		<p>Maltodextrina</p> <p>Nutriosa</p>
<p>Tiempo = 72 h Humedad = 59% Temperatura = 24.3°C</p>		<p>Maltodextrina</p> <p>Nutriosa</p>

Tabla 46: Higroscopicidad de los microencapsulados con maltodextrina y con nutriosa.



Capítulo 5

Conclusiones

5.1. Conclusiones

Tras meses de investigación en este último capítulo se comprobará el grado de cumplimiento de los objetivos marcados al inicio del estudio de la atomización del zumo de granada, a modo de recordatorio, se vuelven a mencionar los objetivos marcados.

- Estudio del proceso de secado por atomización de zumo de granada con un equipo a escala laboratorio.
- Obtención de microencapsulados a partir del concentrado comercial de zumo de granada y de diferentes agentes encapsulantes.
- Comparación de la eficiencia de distintos agentes encapsulantes.
- Comparación de la eficiencia del secado por atomización con maltodextrina y con nutriosa.
- Evaluación de las proporciones de zumo y encapsulante óptimas que posibilitan el secado por atomización, evitando los problemas de pegajosidad.
- Búsqueda de las condiciones óptimas de secado por atomización.
- Caracterización del producto seco obtenido, analizando sus propiedades químicas y físicas. Determinando si la temperatura de secado afecta a los compuestos funcionales presentes en el zumo de granada.

Una vez cumplidos estos objetivos, podemos extraer las siguientes conclusiones:

- Se han realizado experimentos de secado con diferentes agentes encapsulantes (MD6, MD 19, Nutriosa, Actilight y Beneo P95), obteniéndose los mejores resultados con MD6, MD19 y nutriosa.
- Se ha procedido a optimizar la relación a emplear de agente encapsulante/concentrado en los experimentos. Para ello, se han hecho pruebas con diferentes relaciones y temperaturas, obteniéndose rendimientos altos a partir de una relación en peso de 1.25 de agente encapsulante/concentrado. Aumentar la relación no aporta aumentos importantes en los rendimientos, y daría lugar a un producto seco con poca concentración final de zumo de granada. Se han seleccionado como agentes encapsulantes la nutriosa y la maltodextrina 6 ya que son los que mejores rendimientos obtienen.
- Se han hecho experimentos conducentes a la optimización de otras condiciones de secado, como son el grado de dilución del zumo, el caudal de alimentación líquida y la temperatura de entrada del aire de secado, obteniéndose las siguientes conclusiones:
 - De los caudales de alimentación líquida ensayados para este equipo, 0.72 L/h y 1.08 L/h, los mayores rendimientos se obtienen para el caudal más bajo, con resultados de rendimiento superiores en un 10% aproximadamente.
 - En cuanto al grado de dilución del zumo de partida, se han ensayado tres grados de dilución, expresados en grados Brix de zumo (1.28°, 2.56° y 6.40° Brix). En general, se observan los rendimientos menores con el zumo más concentrado. En cuanto a los otros dos grados de dilución, la disparidad en los resultados no permite elegir con claridad uno como el óptimo. Se selecciona como mejor grado de dilución el intermedio (2.56°Brix), ya que presenta la ventaja de proporcionar una mayor productividad.

- En cuanto a la comparación de rendimientos a distintas temperaturas, se ensayaron las temperaturas de entrada de aire de secado de 120 °C, 160 °C y 200 °C. Se observan los mejores resultados para la temperatura intermedia, de 160 °C.
- En resumen, si nos fijamos en el rendimiento de producto como criterio de optimización de las condiciones de secado, las mejores condiciones para el equipo Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Suiza), se encuentran en una relación másica de encapsulante/zumo de 1.25, un caudal de alimentación líquida de 0.72 L/h, una dilución del zumo de partida de 2.56 °Brix y una temperatura de aire de secado de 160 °C. Este criterio es aplicable cuando el producto que se seca es caro y hay que minimizar las pérdidas de producto durante el secado.
- Por otro lado, si se trata de un producto no muy caro, se debe utilizar como criterio de optimización de las condiciones de secado la búsqueda de las mayores productividades, independientemente de que en estas condiciones se pierda más producto de partida. Según este criterio, las mayores productividades se obtienen para el zumo más concentrado (6.4°Brix), el caudal de alimentación líquida más alto (1.08 L/h) y la temperatura de 160 °C.
- Se obtienen rendimientos similares para los dos agentes encapsulantes empleados, maltodextrina 6 y nutriosa. La nutriosa presenta propiedades funcionales adicionales a las del zumo de granada, ya que supone un aporte de fibra. Como contrapartida, el polvo obtenido con nutriosa es más higroscópico que el de maltodextrina, si bien ambos deben ser conservados en atmósferas protegidas de la humedad.
- Del control de calidad de los productos secos obtenidos en función de la temperatura de atomización (determinados componentes de la muestra pueden sufrir alteraciones como consecuencia de las altas temperaturas) se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Antocianos:

Las altas temperaturas no han afectado a la estabilidad de los antocianos, esto es debido a que los tiempos de residencia empleados en el secado son tan pequeños ($\tau = 1s$) que no tiene lugar la degradación de los antocianos.

Por otra parte, el polvo comercial posee una pequeña concentración de antocianos, debida a que éste pueda estar fabricado con granada que no está suficientemente madura. También se observa un color diferente en el polvo comercial, lo que puede deberse a la presencia de un aditivo para aumentar el color.

- Fenoles:

Al igual que ocurría con los antocianos, los fenoles no desaparecen tras el secado, con un contenido de fenoles de 1600 mg/L, coincidente con la datos proporcionados por la bibliografía.

- Actividad antioxidante:

Se observa una pequeña pérdida de actividad antioxidante en el producto seco obtenido, ya que los rendimientos en la capacidad antioxidante que se obtienen son inferiores a los rendimientos máxicos de los experimentos correspondientes en un 10% aproximadamente.

Por otro lado, los sólidos obtenidos en este trabajo tienen una capacidad antioxidante bastante inferior a la obtenida para el polvo comercial.

- HPLC:

- a) En los análisis cromatográficos se han identificado a la longitud de onda de 520 nm, los antocianos más abundantes de la granada. Aparecen tres picos, uno aparece a 12.6 minutos, corresponde al delphinidina-3,5-diglucósido, y los picos

que aparecen a 16.7 y 21.85 minutos son debidos a derivados de la cianidina, concretamente, el 3,5-diglucósido y el 3-glucósido respectivamente.

Por otro lado, observando los cromatogramas que se obtienen en los polvos reconstituidos, podemos afirmar que se observa la permanencia de todos los antocianos en los zumos secados a todas las temperaturas ensayadas (120 °C, 160 °C y 200 °C).

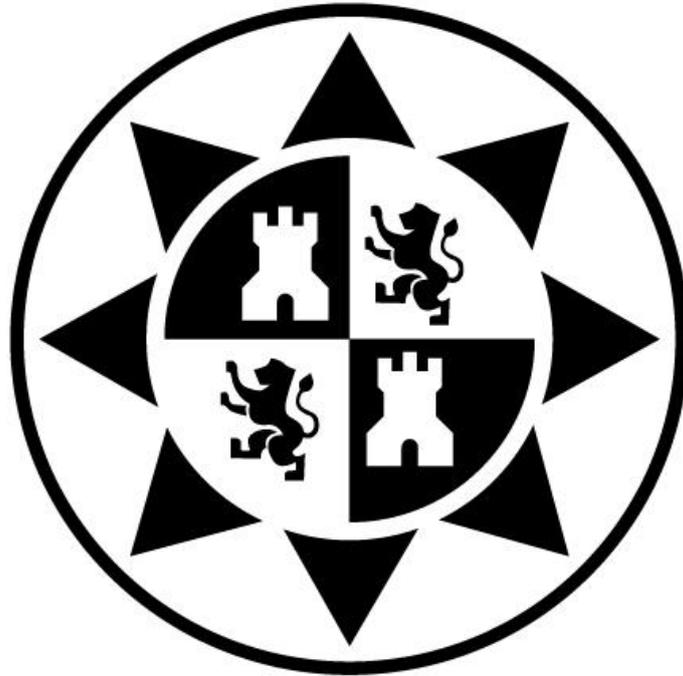
- b) Si extraemos el perfil absorbancias a la longitud de onda de 260 nm, podemos identificar los siguientes polifenoles: los picos que salen a un tiempo de retención de 2.825 y 3.958 corresponden a la punicalagina, que se presenta en dos formas isoméricas. Por otro lado, el pico que aparece a los 3.675 min presenta un espectro de absorción con un único pico en 271 nm. Su forma es similar al galoilglucosa.

Finalmente, el compuesto que aparece a los 29.207 minutos corresponde a ciencia cierta al ácido elágico o a su derivado glicosilado, presentes ambos en el zumo de granada, con un espectro de absorción muy característico.

- Se ha medido la densidad aparente de los sólidos, obteniendo en todos los casos una densidad aparente de las muestras en polvo analizadas entre 0.50 y 0.60 g/mL. Se observa que la densidad aparente aumenta ligeramente al aumentar la proporción de agente encapsulante utilizado. En cuanto al tiempo de disolución, no se observan diferencias significativas entre los distintos experimentos, concluyendo que son productos sólidos de fácil disolución.
- Se ha estudiado la morfología de partícula, realizando fotografías de microscopía electrónica de barrido (SEM), en donde se puede ver gran variedad en la forma y tamaño de las microcápsulas. Estas imágenes nos sirvieron para comprobar que se trata de esferas huecas con un diámetro en torno a las 10 micras. La observación del tamaño de las partículas concuerda con los resultados obtenidos por medidas de tamaño de partículas por dispersión de la luz, en las que el tamaño de partícula más

abundante corresponde a unas 9 o 10 micras. Además de este estudio se puede concluir que:

- Un alto caudal de alimentación (1.08 L/h), provoca un aumento del tamaño de partícula. Este aumento es debido a la mayor velocidad de alimentación, que da lugar a la entrada de más cantidad de producto.
 - En las muestras de nutriosa se compararon microencapsulados con distinta proporción encapsulante/zumo (0.75, 1.0, 1.25 y 1.5), observándose una mayor higroscopicidad de estos polvos, y que ésta disminuye al aumentar la proporción de nutriosa.
- Un último estudio basado en el análisis de la higroscopicidad de las muestras, nos permite concluir que las muestras en las que se utiliza como encapsulante nutriosa tienen una mayor higroscopicidad que las muestras en las que se utiliza maltodextrina como encapsulante. Además, no se observan diferencias de higroscopicidad si comparamos experimentos realizados con el mismo encapsulante a diferente temperatura. Estos resultados indican que el producto en polvo obtenido tiene que ser conservado en condiciones de humedad controlada.



Capítulo 6

Bibliografía

5. Bibliografía

- Abadio, F.D.B., Domingues, A.M., Borges, S.V., Oliveira, V.M. (2004). Physical properties of powered pineapple (*Ananas comosus*) juice-effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering* 64, 285-287.
- Bhandari, B.R., Datta, N., Crooks, R., Howes, T., Rigby, S. (1997). A semi-empirical approach to optimize the quantity of drying aids required to spray dry sugar rich foods. *Drying Technology* 15, 2509-2525.
- Boonyai, P., Bhandari, B., Howes, T. (2004). Stickiness measurements techniques for food powders: a review. *Powder Technology* 145, 34-46.
- D.Drogoudi, P., Tsipouridis, C. (2005). Physical and chemical characteristics of Pomegrates. *HortScience* 40(5), 1200-1203.
- Dolinsky, A., Maletskaya, K. y Snezhkin, Y. (2000). Fruit and vegetable powders production technology on the bases of spray and convective drying methods. *Drying Technology* 18, 747-758.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40, 1107-1121.
- Hellman, J. (2000) "Farmacotécnica Teórica y Práctica", Vol. I – VIII. Ed. Continental, México.
- Hernández, F., Melgarejo, P., Tomás-Barberán, F.A., Artés, F. (1999). Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *Eur Food Res Technol* 210, 39-42.
- Lansky, E.P., Newman, R.A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 177-206.

- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79, 727-747.
- Mara Righetto, A., Maria Netto, F. (2005). Effect of encapsulating material on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *International Journal of Food Properties* 8, 337-346.
- Maskan, M. (2006). Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: color degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering* 72, 218-224.
- Masters, K. (2002). *Spray drying in practice*. Ed. SprayDyConsult International ApS, Charlottenlund, Denmark.
- Melgarejo, P., Salazar, D.M. (2000). Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Eur Food Res Technol* 211, 185-190.
- Mujumdar, A.S. (1995). *Handbook of industrial drying*. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York. p.p. 263-309.
- Obón, J.M., Castellar, M.R., Cácales, J.A., Fernández, J.A. Assessment of the TEAC method for determining the antioxidant capacity of synthetic red food colorants. *Food Research International* 38 (8-9): 843-845 2005.
- Quek, S.Y., Chok, N.K., Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing* 46, 386-392.
- Raghavan, G.S., Orsat, V. (2007). Recent advances in drying of biomaterials for superior quality bioproducts. *Journal of Chemical Engineering* 2, 20-29.
- Righetto, A.M., Netto, F.M. (2005). Effect of encapsulating material on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *International Journal of Food Properties* 8, 337-346.

- Snow, R.H. (2003). Spray Dryers. A guide to performance evaluation. American Institute of Chemical Engineers. NY.
- Stintzing, F.C., Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. Food Science and Technology 15, 19-38.
- Tomás-Barberán, F.A., Artés, F. Post-harvest technological treatments of pomegranate and preparation of derived products. Ciheam, Options Mediterraneennes.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48, 4581-4589.
- Vila Jato, J. L. (1997) "Tecnología Farmacéutica". Vol. I. Ed. Síntesis. S.A., Madrid. Capítulo 10.
- Vilstrup, P. (2004). Microencapsulation of Food Ingredients. Ed. Leatherhead International Limited, Surrey, UK. Pp 1-47.
- Wada, L., Ou, B. (2002). Antioxidant activity and phenolic content of Oregon caneberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 3495-3500.