

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCION DE POSTGRADO



ENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS DE *Flourensia spp.* Y EVALUACIÓN DE  
LOS ENCAPSULADOS EN UN MODELO GASTROINTESTINAL *In vitro*

**Tesis**

Que presenta GLORIA NALLELY PUENTE ROMERO

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

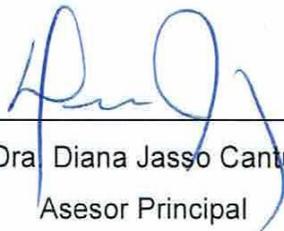
Saltillo, Coahuila

Julio 2019

ENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS DE *Flourensia spp.* Y EVALUACIÓN DE  
LOS ENCAPSULADOS EN UN MODELO GASTROINTESTINAL *In vitro*

**Tesis**

Elaborada por GLORIA NALLELY PUENTE ROMERO como requisito parcial  
para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE  
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN con la supervisión y aprobación del Comité de  
Asesoría



---

Dra. Diana Jasso Cantú  
Asesor Principal



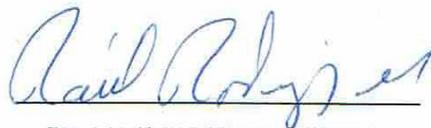
---

Dr. Homero Ramírez Rodríguez  
Asesor



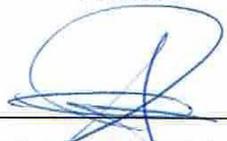
---

Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla  
Asesor



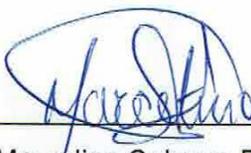
---

Dr. Raúl Rodríguez García  
Asesor



---

Dra. María de Lourdes Virginia Díaz Jiménez  
Asesor



---

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente  
Subdirector de Postgrado UAAAN

## **AGRADECIMIENTOS**

Quisiera agradecer a todas las personas que contribuyeron en la realización de este proyecto, gracias por su tiempo, dedicación y apoyo.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca que me fue otorgada para llevar a cabo los estudios de Maestría en Ciencias en Ingeniería en Sistemas de Producción en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Agradezco a la doctora **Dra. Diana Jasso Cantú** por darme la oportunidad de poder trabajar dentro de unos de sus proyectos de investigación, el cual me ayudo a ampliar mis conocimientos y desarrollar nuevas habilidades.

A la **Dra. María de Lourdes Virginia Díaz Jiménez** quisiera expresarle mi más sincero agradecimiento por siempre brindarme su apoyo, tiempo y dedicación así como su apoyo siempre firme para la conclusión de este proyecto, por permitirme trabajar en el Laboratorio de Revaloración de Residuos del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) Unidad Saltillo con gran admiración y respeto para Usted y todo su equipo de trabajo.

A **T.A. Edith Chaires Colunga** por su gran apoyo y enseñanzas dentro del laboratorio.

## DEDICATORIA

A mi familia, a mis padres **Felipe Antonio Puente Martínez** y **María de Jesús Romero Carreón** y hermano **César Alejandro Puente Romero** por el apoyo brindado a lo largo de este nuevo proyecto en mi vida, por sus consejos y palabras.

A mi futuro esposo **Fernando Alonso Cuevas**, gracias por todo el apoyo incondicional que me has brindado a lo largo de este proceso, por motivarme día a día y enseñarme que jamás debo abandonar, que puedo alcanzar cualquier cosa que yo me proponga, por creer en mi como lo has hecho, juntos vamos construyendo nuestros sueños, gracias por todo tu amor.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA .....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
LISTA DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE CUADROS .....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos .....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Plantas con actividad biológica en México .....	4
<i>Flourensia</i> spp.....	5
<i>F. cernua</i> .....	5
<i>F. microphylla</i> .....	7
<i>F. retinophylla</i> .....	8
Encapsulación .....	9
Ventajas de la tecnología de encapsulación.....	11
Clasificación de las cápsulas por tamaño.....	12
Microcápsulas .....	13
Nanocápsulas.....	14

Materiales utilizados en la encapsulación.....	15
Grasas.....	16
Proteínas.....	16
Polímeros.....	17
Técnicas de encapsulación.....	17
Secado por aspersión.....	18
Aspersión en frío o congelación.....	19
Extrusión.....	20
Inclusión molecular.....	20
Emulsión.....	21
Liofilización.....	21
Gelificación iónica.....	21
Encapsulación de compuestos con actividad funcional.....	22
Aplicación biológica de cápsulas.....	24
Liberación controlada.....	25
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
Colecta de muestras y obtención de los extractos.....	26
Extractos de etanol de <i>Flourensia</i> spp.....	26
Encapsulado de los extractos por gelificación.....	26
Encapsulado de los extractos por emulsificación.....	27
Caracterización de extractos y encapsulados de <i>Flourensia</i> spp.....	28
Contenido de fenoles totales (TPC).....	28
Actividad antioxidante por el método DPPH.....	28
Actividad antioxidante por el método FRAP.....	29

Actividad antioxidante por el método de decoloración radical de cationes del 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6- sulfonato de amonio) (ABTS).....	29
Caracterización de extractos encapsulados .....	30
Viscosidad de alginato .....	30
Eficiencia de encapsulación .....	30
Análisis de microscopia electrónica de barrido (SEM) .....	31
Análisis de microscopia óptica .....	31
Análisis de Infrarrojo.....	31
Análisis térmico .....	31
Ensayo de liberación del extracto <i>In vitro</i> .....	32
Análisis estadístico .....	32
RESULTADOS.....	33
TPC y actividad antioxidante de extractos de <i>Flourensia</i> spp. y extractos microencapsulados.....	33
Encapsulado por gelificación .....	35
a) Macrocápsulas.....	35
b) Microcápsulas.....	36
a) Morfología de las cápsulas obtenidas por gelificación observadas mediante microscopio óptico Zeiss .....	37
b) Morfología de las cápsulas obtenidas por gelificación observadas por un microscopio electrónico de barrido.....	39
c) Morfología de las nanocápsulas obtenidas por gelificación observadas con un microscopio electrónico de barrido .....	41
Encapsulado por emulsificación .....	42
Evaluación de la liberación de extracto de los encapsulados en un modelo de jugos gástricos <i>In vitro</i> .....	48

Evaluación de encapsulados en un modelo de jugos intestinales .....	50
CONCLUSIONES .....	54
REFERENCIAS .....	56

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Arbusto de <i>F. cernua</i> in situ. ....	6
<b>Figura 2.</b> Arbusto de <i>F. microphylla</i> in situ. ....	7
<b>Figura 3.</b> Arbusto de <i>F. retinophylla</i> in situ. ....	9
<b>Figura 4.</b> Representación esquemática de los diferentes sistemas de encapsulación: a) esfera simple, b) estructura agregada, c) estructura combinada y d) partículas irregulares (Gharsallaoui et al., 2007). ....	12
<b>Figura 5.</b> Macrocápsulas de alginato de sodio (1), encapsulados de <i>F. microphylla</i> (2), encapsulados de <i>F. retinophylla</i> (3) y encapsulados de <i>F. cernua</i> (4). ....	36
<b>Figura 6.</b> Macrocápsulas secas de <i>F. microphylla</i> (1), <i>F. retinophylla</i> (2) y <i>F. cernua</i> (3). ....	36
<b>Figura 7.</b> Microcápsulas frescas de (1) <i>F. cernua</i> , (2) <i>F. microphylla</i> y (3) <i>F. retinophylla</i> . ....	37
<b>Figura 8.</b> Microcápsulas secas de (1) <i>F. cernua</i> , (2) <i>F. microphylla</i> y (3) <i>F. retinophylla</i> (3). ....	37
<b>Figura 9.</b> Microcápsulas de <i>F. cernua</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	38
<b>Figura 10.</b> Microcápsulas de <i>F. microphylla</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	38
<b>Figura 11.</b> Microcápsulas de <i>F. retinophylla</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	39
<b>Figura 12.</b> Microcápsulas de <i>F. cernua</i> observadas con un microscopio electrónico de barrido. ....	40
<b>Figura 13.</b> Microcápsulas de <i>F. microphylla</i> observadas con un microscopio electrónico de barrido. ....	40
<b>Figura 14.</b> Microcápsulas de <i>F. retinophylla</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	41
<b>Figura 15.</b> Nanocápsulas de <i>F. microphylla</i> observadas con un microscopio electrónico de barrido. ....	42

<b>Figura 16.</b> Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de <i>F. cernua</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	43
<b>Figura 17.</b> Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de <i>F. microphylla</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	43
<b>Figura 18.</b> Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de <i>F. retinophylla</i> observadas con un microscopio óptico Zeiss. ....	44
<b>Figura 19.</b> Grafica de Análisis Térmico .....	46
<b>Figura 20.</b> Análisis termogravimétrico DSC (a) y TGA (b) de las microcápsulas de alginato puro y extractos de <i>F. cernua</i> , <i>F. microphylla</i> y <i>F. retinophylla</i> . ....	47
<b>Figura 21.</b> Extracto de liberación en fluidos gástricos (pH 1.2) de microcápsulas frescas (-f) y secas (-s) de <i>F. cernua</i> (Fc), <i>F. microphylla</i> (Fm) y <i>F. retinophylla</i> (Fr). Los valores son la media y las barras de error muestran la desviación estándar. Las letras mayúsculas se utilizan para comparar medias de microcápsulas frescas; Las letras minúsculas se utilizan para comparar medias de microcápsulas secas. Los medios con la misma letra mayúscula y minúscula no difirieron según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). ....	50
<b>Figura 22.</b> Extracto de liberación en fluidos intestinales (pH 7) de microcápsulas frescas (-f) y secas (-s) de <i>F. cernua</i> (Fc), <i>F. microphylla</i> (Fm) y <i>F. retinophylla</i> (Fr). ....	51

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Materiales utilizados en la encapsulación (Desai y Park, 2005). .....	16
<b>Cuadro 2.</b> Ejemplos de encapsulación de compuestos antioxidantes.....	23
<b>Cuadro 3.</b> Contenido fenólico total (TPC) y actividad antioxidante de los extractos etanólicos de hojas de <i>Flourensia</i> spp. ....	34
<b>Cuadro 4.</b> Contenido fenólico total (TPC) y actividad antioxidante de los extractos microencapsulados de <i>Flourensia</i> spp. ....	34
<b>Cuadro 5.</b> Viscosidad de alginato de sodio y mezcla de alginato con los extractos de las especies de <i>Flourensia</i> . ....	45
<b>Cuadro 6.</b> Señales de banda y las asignaciones de grupos funcionales de alginato de sodio y de los extractos de <i>F. cernua</i> , <i>F. microphylla</i> y <i>F. retinophylla</i> por análisis de FTIR, en comparación con espectros FTIR de alginato de sodio (Flores-Garay et al., 2016).....	48
<b>Cuadro 7.</b> Parámetros cinéticos de la liberación de extracto de <i>Flourensia</i> spp. ....	53

## RESUMEN

ENCAPSULACIÓN DE EXTRACTOS DE *Flourensia spp.* Y EVALUACIÓN DE  
LOS ENCAPSULADOS EN UN MODELO GASTROINTESTINAL *In vitro*

POR

GLORIA NALLELY PUENTE ROMERO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DRA. DIANA JASSO CANTÚ –ASESOR–

SALTILLO, COAHUILA

JULIO 2019

Recientemente, algunas especies del género *Flourensia* han sido identificadas por sus posibles efectos en la salud (por ejemplo, antiinflamatorios y apoptóticos). La encapsulación de extractos de plantas es un proceso que puede permitir una administración de dosis adecuada, así como para proteger los compuestos bioactivos y mejorar su liberación controlada en el sistema gastrointestinal (GI). Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron: encapsular los extractos de etanol de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*; y evaluar la liberación controlada de extractos encapsulados en un sistema GI *in vitro*. Hojas de *Flourensia* spp. se recolectaron en sitios silvestres del estado de Coahuila y los extractos de etanol se obtuvieron mediante el método Soxhlet. La encapsulación se realizó mediante la técnica de gelificación, utilizando alginato y emulsificación. Las cápsulas formadas se caracterizaron en términos de contenido total de fenol (método de Folin-Ciocalteu), actividad antioxidante (ensayos DPPH, ABTS y FRAP), análisis SEM y térmico, y digestión GI *in vitro*. Se encontró que las microcápsulas tenían una forma esférica y una dimensión de microescala en el rango de 2.1-68.8  $\mu\text{m}$ . Además, la construcción de las cápsulas se confirmó por la aparición de un pico exotérmico centrado a  $\sim 600^\circ\text{C}$  en el análisis de DSC. *F. microphylla* destaca por su fuerte actividad antioxidante, incluso en su forma encapsulada. En el sistema gástrico, los extractos de microcápsulas frescas se liberaron de 7.7 a 14.5%, mientras que se observaron valores de 26.5 a 53.3% para los secos. Para el sistema intestinal, se observó una mayor liberación de microcápsulas secas (59.9 a 78.4%) que para aquellas frescas (26.3 a 30.2%). Por lo tanto, se demostró que la microcápsula de alginato protegía los extractos hasta que se entregaron al sitio objetivo en el modelo GI, y este efecto fue mejor con las microcápsulas secas de *Flourensia* spp. este estudio establecería la guía para la aplicación de *Flourensia* spp. extractos para aprovechar sus beneficios para la salud humana.

**Palabras clave:** Microcápsulas; digestión gastrointestinal; liberación controlada; *F. cernua*; *F. microphylla*; *F. retinophylla*.

## ABSTRACT

ENCAPSULATION OF EXTRACTS *OF Flourensia* spp. AND EVALUATION OF  
THE ENCAPSULATED IN A GASTROINTESTINAL MODEL *In vitro*

BY

GLORIA NALLELY PUENTE ROMERO  
MASTER OF SCIENCE IN PRODUCTION OF SYSTEMS ENGINEERING

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DRA. DIANA JASSO CANTÚ –ADVISOR-

SALTILLO, COAHUILA

JULY 2019

Recently, some species of the genus *Flourensia* have been identified by their potential health effects (e.g. anti-inflammatory and apoptotic). Encapsulation of plant extracts is a process that can allow an adequate dosage administration, as well as to protect bioactive compounds and improve their controlled release in the gastrointestinal (GI) system. Therefore, the aims of this work were: to encapsulate the ethanol extracts of *F. cernua*, *F. microphylla* and *F. retinophylla*; and to evaluate the controlled release of the encapsulated extracts in an *in vitro* GI system. Leaves of *Flourensia* spp. were collected in wild sites of Coahuila State, and the ethanol extracts were obtained by the Soxhlet method. The encapsulation was performed by the gelation technique, using alginate. The microcapsules formed were characterized in terms of total phenol content (Folin-Ciocalteu method), antioxidant activity (DPPH, ABTS and FRAP assays), SEM and thermal analysis, and *in vitro* GI digestion. The capsules were found to have spherical-shape and a micro-scale dimension in the range of 2.1-68.8  $\mu\text{m}$ . Also, the built of microcapsules was confirmed by the appearance of an exothermic peak centered at  $\sim 600^\circ\text{C}$  in the DSC analysis. *F. microphylla* noted for its strong antioxidant activity, even in its encapsulated form. In the gastric system the extracts of fresh microcapsules were released from 7.7 to 14.5%, while values of 26.5 to 53.3% were observed for those dried. For the intestinal system, the higher release was observed for dried microcapsules (59.9 to 78.4%) than for those fresh (26.3 to 30.2%). Thus, it was demonstrated that the alginate microcapsule protected the extracts until they were delivered to the target site in the GI model, and this effect was better with the dried microcapsules of *Flourensia* spp. This study would set the guide for the application of *Flourensia* spp. extracts in order to take advantage of their benefits to human health.

## **Keywords**

Microcapsules; gastrointestinal digestion; controlled release; *F. cernua*; *F. microphylla*; *F. retinophylla*.

## INTRODUCCIÓN

La investigación sobre agentes bioactivos de plantas de las zonas áridas y semiáridas ha adquirido gran relevancia en los años recientes. Como ejemplo se tiene el género *Flourensia*, que consta de 32 especies de arbustos resinosos, entre las que se encuentra *Flourensia microphylla* (A. Gray) S.F. Blake, que ha demostrado poseer actividad antioxidante, antifúngica, antiinflamatoria y anticancerígena (Jasso de Rodríguez et al., 2007; Jasso de Rodríguez et al., 2017b). Uno de los retos a atender es la dosificación en una presentación de fácil manejo. Así, la encapsulación de principios activos es una tecnología con muchas aplicaciones potenciales en áreas tales como las industrias farmacéutica y de alimentos (Quintanilla-Carvajal et al., 2010). El método se ha empleado para proteger compuestos bioactivos (polifenoles, micronutrientes, enzimas, antioxidantes y nutraceuticos) de un medio ambiente adverso. Además, el encapsulamiento permite la obtención de sistemas de liberación controlada o sostenida de fármacos y principios activos en sitios específicos. Así mismo permite también la posibilidad de enmascarar olores desagradables de principios activos y proteger al producto contra la oxidación, fotosensibilidad, volatilidad y en algunos casos en la reducción de la acción irritante gastrointestinal de algunos activos (Gouin, 2004; Lamas et al., 1998). Lo anterior da como resultado una mayor eficacia de la dosificación y mejora la rentabilidad del producto (Vila, 1997). Como se mencionó antes, esta tecnología se utilizó en el pasado para enmascarar sabores desagradables de ciertos ingredientes y para transformar los líquidos en sólidos. Sin embargo, actualmente el concepto de liberación controlada del ingrediente encapsulado en el sitio específico y en el momento adecuado, se ha vuelto cada vez más interesante e investigado.

Para poder valorar la liberación, se han propuesto modelos gastrointestinales que simulan las condiciones del tracto gastrointestinal, se clasifican en modelo convencional y modelos dinámicos.

Los factores fisiológicos más importantes del sistema gastrointestinal que afecta el funcionamiento de los recubrimientos de los fármacos con polímeros son:

- El pH de estómago e intestino.
- El vaciado gástrico.
- La actividad enzimática en todo el sistema gastrointestinal.

La liberación controlada de fármacos es una nueva modalidad para tratar patologías de diversos tipos y características. El término de liberación controlada se refiere a la capacidad de un sistema de administrar un fármaco durante un período prolongado de tiempo a una tasa controlada, ofreciendo una atractiva alternativa para conseguir niveles constantes de fármaco en el organismo, y a su vez reduciendo los posibles efectos tóxicos del mismo. En los últimos 20 años, se ha vuelto más popular la investigación en este campo como una forma de tratar enfermedades tales como el cáncer y la diabetes.

Para la liberación controlada de fármacos es necesaria la encapsulación de los compuestos activos, para que no actúen durante su tránsito por el cuerpo hasta llegar al lugar afectado, de forma que mantengan intactas sus propiedades físico-químicas y que se minimicen posibles efectos secundarios en otras zonas del cuerpo. Una vez que el fármaco ha llegado a su destino, debe liberarse a una velocidad apropiada para que sea efectivo, lo cual se puede hacer mediante una variación de ciertas condiciones (pH, temperatura, etc.) en la zona dañada, o mediante un control preciso de la velocidad de degradación del material encapsulante, permitiendo que la liberación del fármaco sea controlada (Lechuga, 2010).

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Encapsular extractos de *Flourensia cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*, así como evaluar la liberación de los extractos encapsulados, en un modelo gastrointestinal *in vitro*.

### Objetivos Específicos

- Elaborar cápsulas de extractos de etanol de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*, mediante técnicas de gelificación y emulsificación.
- Cuantificar el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante, así como identificar la composición química de los extractos macroencapsulados y sin encapsular de las tres especies de *Flourensia*.
- Evaluar las características morfológicas y fisicoquímicas de los extractos macro, micro y nano encapsulados, de las tres especies de *Flourensia*.
- Evaluar *in vitro* el porcentaje de liberación de los extractos macroencapsulados de las tres especies de *Flourensia*, en un modelo gastrointestinal *in vitro*.

### Hipótesis

Los extractos encapsulados de *Flourensia* spp. mejoran el porcentaje de liberación de los compuestos bioactivos en el modelo gastrointestinal *in vitro*.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Plantas con actividad biológica en México**

Las plantas medicinales han sido tradicionalmente utilizadas a lo largo de la historia del ser humano como remedios o suplementos para el tratamiento de diversas enfermedades. La acción de las plantas se debe principalmente a que están constituidas por una amplia gama de compuestos biológicamente activos (Newman et al., 2003). Así, es comprensible que aproximadamente el 25% de los fármacos en todo el mundo provenga de plantas (Alonso-Castro et al., 2011).

México es un país extremadamente rico en variedad florística, donde se ha reportado la existencia de más de 23,400 especies vasculares, de éstas, alrededor de 5,000 se han utilizado con fines medicinales (Sarukhán, 2006). Por otra parte, el territorio que ocupa México está conformado en un 32% por zonas áridas y en un 19% por zonas semiáridas (Unesco, 2010), representando así, más de la mitad de su territorio (Aguirre-Garrido et al., 2012). La región árida y semiárida de México se distribuye principalmente en el norte del país abarcando partes bajas de Sonora, Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Durango y Tamaulipas. Cabe mencionar que al centro y sur del país también se encuentran algunas áreas con condiciones semiáridas tales como en los estados de Querétaro, Hidalgo, Puebla, Oaxaca y Guerrero (Salvador, et al., 2013). En estas zonas geográficas suele proliferar una amplia variedad de arbustos xerófilos, los cuales comparten el hábitat con grupos aislados de vegetación arbórea (Rzedowski, 1988).

Algunas comunidades nativas han usado, de manera empírica, algunas plantas para tratar ciertas enfermedades, contando así con una extensa farmacopea de plantas medicinales (López-Rubalcava y Estrada-Camarena, 2016). De manera más formal se han realizado diversos estudios con especies de zonas semiáridas que han mostrado que son una alternativa para uso medicinal, ya que los extractos de las plantas presentaron altas concentraciones de compuestos fenólicos, así como actividad antioxidante (León et al., 2013).

### ***Flourensia* spp.**

La investigación sobre agentes bioactivos de plantas del semidesierto ha continuado en el género *Flourensia*, la cual pertenece a la subtribu Ecliptinae, tribu Heliantheae y subfamilia Asteroideae (Rios, 2015). Esta planta crece exclusivamente en una zona que atraviesa el continente Americano, abarcando el sur de los Estados Unidos, México, Perú, Bolivia, Chile y Argentina (Dillon, 1984). Son plantas que se adaptan con facilidad a regiones áridas, semiáridas y desérticas, caracterizadas por sequías, altas temperaturas y alta radiación UV (Silva et al., 2012). En este género se han identificado 42 especies de subarbustos y pequeños árboles resinosos y aromáticos, que exhiben abundancia de flores amarillas (Delbón et al., 2012; Rios, 2015).

Algunos de los estudios realizados a especies de estas plantas han conseguido determinar la presencia de algunos compuestos químicos, principalmente polifenoles y flavonoides (Rios, 2015), los cuales han demostrado poseer propiedades biológicas como aleloquímicos, herbicidas, promotores de crecimiento vegetal, insecticidas, antibacterianos y antifúngicos, entre otras (Jasso de Rodríguez et al., 2017b).

En el norte y centro de México se distribuyen 13 especies del género *Flourensia*: *F. cernua*, *F. colludes*, *F. dentata*, *F. glutinosa*, *F. ilicifolia*, *F. laurifolia*, *F. microphylla*, *F. monticola*, *F. pringlei*, *F. pulcherrima*, *F. resinosa*, *F. retinophylla* y *F. solitaria*; de las cuales, *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* son endémicas del estado de Coahuila (Jasso de Rodríguez et al., 2007; Stiles, 2009).

### ***F. cernua***

Esta especie se localiza en Estados Unidos de América (EAU) y México. En EAU se le conoce con varios nombres comunes: tarbush, hojase, american tarbush, black brush, barnish-brush; mientras que en México recibe el nombre común: hojasén, arbusto de alquitrán y escobilla negra (Jasso de Rodríguez et al., 2012). Esta planta se desarrolla como un arbusto que llega a alcanzar alturas de 2 m (Fig. 1). Presenta tallos muy ramificados, resinosos, aromáticos, de color marrón

a negro y sus hojas son elípticas a ovadas de 17-25 mm de largo y de 5-12 mm de ancho (Reese, 2015). El fruto es un aquenio de 6 mm de largo y 2 mm de ancho, lateralmente comprimido, ápice muy veloso y de 2 a 4 aristas desiguales y ciliadas de 2-3 mm de largo, casi obscurecidas por los pelos largos del cuerpo del aquenio (Keil et al., 1982). Es una planta que se distribuye a lo largo de la región desértica del norte-centro de México, incluyendo los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas (Dillon, 1984).

El hojásén es la planta más estudiada del género *Flourensia*, es usada en medicina tradicional por los pobladores de las áreas rurales de las zonas áridas y semiáridas. Se usa para aliviar algunos malestares gastrointestinales (indigestión, disentería), como expectorante y como remedio reumático (Mata et al., 2003). Además, se ha informado que los extractos de *F. cernua* tienen actividad antioxidante, anti-VIH, antitumoral, así como propiedades antidiabéticas (León et al., 2013; Luo et al., 1998). Algunos de los componentes químicos presentes en *F. cernua* son de naturaleza monoterpenoide y sesquiterpenoide (Tellez et al., 2001).



**Figura 1.** Arbusto de *F. cernua* *in situ*.

### ***F. microphylla***

*F. microphylla* (Gray) S.F. Blake [Encelia m. Gray] es una especie endémica del noreste mexicano (Fig. 2). Es una planta arbustiva que alcanza una altura que va de 0.5 hasta 1.0 m de altura. Es un arbusto que exhibe ramas jóvenes de color café púrpura, estriadas cerradamente, con pelos incurvados. Las hojas son ovaladas elípticamente de 15 a 25 mm de largo cuneadas pubescentes de 1.5 a 4 mm de longitud, los pecíolos ubicados sobre la base, con márgenes pilosos más o menos pubescentes a lo largo del margen. Las corolas son de color amarillo oro con lígulas ovaladas de 10 mm de largo y 4 a 6 mm de ancho. Los discos florales son amarillos, aproximadamente de 6 mm de longitud y cilíndricas. Esta planta se encuentra en Coahuila, en la Sierra de San Marcos (Dillon, 1984). Existen escasos reportes sobre la actividad biológica de *F. microphylla*, se ha reportado actividad anti-fúngica del extracto etanólico *in vitro* contra *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium Oxysporum* (Jasso de Rodríguez et al., 2007), contiene una gran fuente de compuestos antioxidantes, ha demostrado poseer actividad antiproliferativa en células de cáncer de colon y como agente anti-inflamatorio (Jasso de Rodríguez et al., 2017a).



**Figura 2.** Arbusto de *F. microphylla* *in situ*.

***F. retinophylla***

*F. retinophylla* S.F. Blake, comúnmente conocida como yerba de mula, es un arbusto endémico del centro y sureste de Coahuila, muy ramificado y resinoso, de 1 a 2.5 m de alto (Fig. 3). Esta planta crece en suelos rocosos, principalmente en laderas con presencia de agave e izotal o chaparral. Su distribución se da en áreas que comprenden el Bolsón de Mapimi, Sierra de Delicias, Sierra de la Madera y Sierra de la Paila en una altura que va desde los 1200 a los 2000 msnm. Es una planta cuya floración ocurre entre Septiembre y Noviembre (Dillon, 1984). Se distribuye en un amplio rango altitudinal desde justo el nivel del suelo del desierto hasta las partes más altas de muchos cañones. Cohabita con especies como: *Acacia berlandieri*, *Agave lechuguilla*, *Arctostaphylos*, *Dasyllirion*, *Hechtia*, *Pinus pinceana*, *Quercus intricata*, *Rhus virens* y *Viguiera stenoloba* (Jasso de Rodríguez et al., 2007).

El estudio de la composición química de *F. retinophylla* ha sido escaso, se encuentran algunos reportes en donde se han identificado, en las hojas, algunos flavonoides glicosidados como el 5,7-dihidroxi-flavanona (pinocembrina) y el 3,7-dimetil eter de kaemferol (kumatakenina) (Dillon y Mabry, 1977); además de 5,7,3'-trihidroxi-3-isobutirolflavanonol; 5,7,3'-trihidroxi-flavanona y 5,7-dihidroxi-3'-metoxiflavanona (Stuppner y Müller, 1994).

Por otra parte, la actividad biológica también ha sido poco estudiada. Se tiene evidencia de que extractos etanólicos de hojas de esta especie presentan actividad antifúngica (Jasso de Rodríguez et al., 2007), sin embargo, a partir de estudios preliminares de la composición química de esta planta, es posible que presente actividad frente a otro tipo de microorganismos.



**Figura 3.** Arbusto de *F. retinophylla* in situ.

### **Encapsulación**

Una cápsula consiste en un sistema constituido por una membrana delgada y fuerte, de material permeable o impermeable, generalmente de forma esférica, que contiene un núcleo sólido o líquido (Pimentel-González et al., 2009).

Por otro lado, la encapsulación se define como una tecnología de empaque en miniatura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos contenidos en cápsulas. La característica más conocida de los encapsulados es que pueden liberar su contenido de forma controlada bajo condiciones específicas. La tecnología de encapsulación ha sido empleada en la industria de alimentos por más de 60 años (Pimentel-González et al., 2009) y sigue en evolución a fin de mejorar las características, tanto del material encapsulante como el mecanismo de liberación del principio activo. Mediante la encapsulación se pueden confinar principios activos, naturales y sintéticos, dentro de una matriz polimérica. Con la aplicación de esta técnica es posible crear un microambiente en la cápsula capaz de controlar las interacciones entre el interior y el exterior de la misma (Borgogna et al., 2010).

La encapsulación es una tecnología con muchas aplicaciones potenciales en áreas tales como la industria farmacéutica y de alimentos. Algunos de los

propósitos de aplicar una técnica de encapsulación en la industria de alimentos son (Champagne y Fustier, 2007; Charles, 2012):

- Proteger al compuesto activo de la degradación que puede sufrir debido a condiciones ambientales (calor, aire, luz, humedad, etc.).
- Lograr la liberación controlada del compuesto activo desde la matriz encapsulante bajo condiciones específicas (pH, temperatura, etc.).
- Modificar las características físicas del material original y hacer más fácil su manipulación. Por ejemplo, reducir la higroscopicidad, modificar su densidad, distribuir el material uniformemente en una muestra, convertir materiales líquidos en polvo, entre otros.
- Enmascarar sabores desagradables.
- Separar componentes con el fin de que éstos no interactúen provocando reacciones indeseadas.

En un sentido más amplio, la encapsulación provee un medio de envasar, separar y almacenar materias en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas en sitios específicos (Pedroza, 2002). Se ha empleado para proteger compuestos bioactivos como: polifenoles, micronutrientes, enzimas, antioxidantes, nutraceuticos y terapéuticos, saborizantes, colorantes, ácidos, reguladores, agentes antimicrobianos, vitaminas, minerales, edulcorantes, enzimas y levaduras, sólo por mencionar algunos (Brownlie, 2007). Lo destacable del proceso de encapsulación reside en que su aplicación no se limita únicamente al campo de los medicamentos o sustancias biológicas, sino que se extiende a campos tan diversos como la agricultura, especialmente para la encapsulación de pesticidas y fertilizantes; la cosmética y la alimentación, encapsulando aromas, vitaminas y otros.

En una cápsula, el material que es cubierto se refiere como fase interna o núcleo y el material que recubre es llamado pared y generalmente no reacciona con el material a encapsular (Pedroza, 2002).

### **Ventajas de la tecnología de encapsulación**

Una de las principales ventajas que ofrece la encapsulación es que el principio activo, presente en el núcleo o fase interna, se puede liberar bajo condiciones controladas en el momento y lugar deseado (Brownlie, 2007). De esa manera, la liberación del principio activo puede darse por tres mecanismos diferentes:

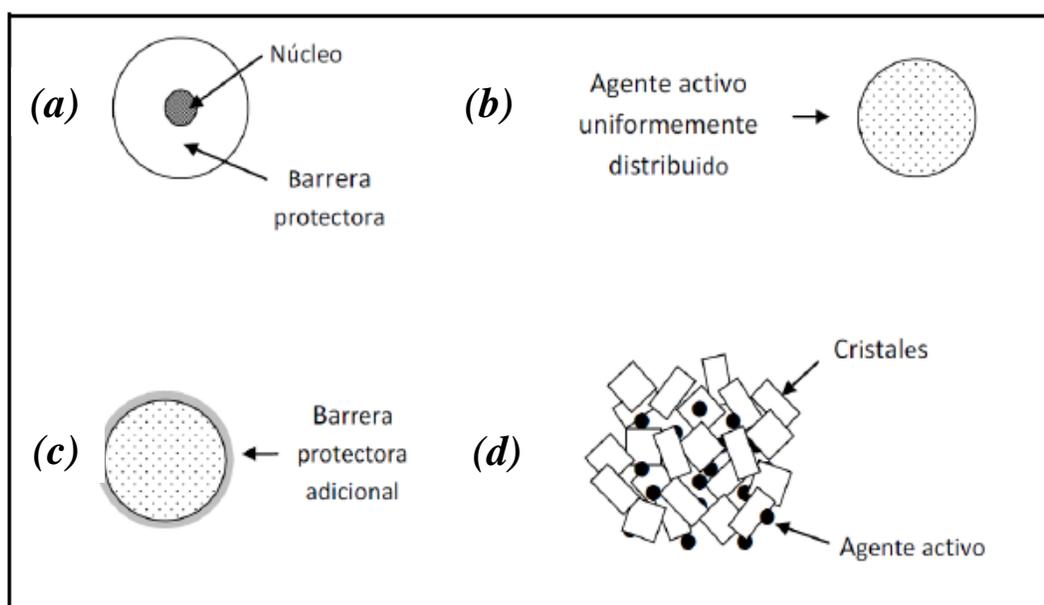
- Liberación térmica: ésta se da por efecto del incremento de la temperatura. Suele observarse en encapsulados alimenticios en los que el compuesto de interés se libera durante la cocción del alimento.
- Liberación física: se genera por rompimiento de la cápsula por esfuerzo mecánico (masticado).
- Disolución: la cubierta se disuelve bajo condiciones determinadas de pH o de concentración de sales, como ocurre durante la digestión. Este mecanismo de disolución se observa también en el área agroquímica, en la liberación de compuestos encapsulados en fertilización y control de plagas.

En cuanto a su forma, la mayoría de los encapsulados son pequeñas esferas, aunque el tamaño y la forma dependen tanto del material, como del método de obtención. La forma de las cápsulas depende de las propiedades fisicoquímicas del material encapsulado, la composición de la pared y la técnica de encapsulación. Es decir, pueden existir diferentes formas de cápsulas, tal como se presenta en la Fig. 4 (Gharsallaoui et al., 2007):

- a) Esfera simple: el principio activo o núcleo se encuentra concentrado y rodeado de una capa de espesor uniforme. Se puede tratar de una cubierta inerte alrededor del núcleo.
- b) Estructura agregada: en este caso el compuesto encapsulado, o principio activo, se encuentra distribuido uniformemente en el medio encapsulante, tal como suele observarse en los geles.
- c) Estructura combinada: este tipo de cápsulas se obtienen de la combinación de una estructura agregada y una esfera. Se trata de la

obtención de un sistema disperso del principio activo en un medio encapsulante seguido de la cobertura de la cápsula con una capa de otro material.

- d) Partículas irregulares: estas son cápsulas formadas por agregados informes del material encapsulante en el cual se encuentra contenido el principio activo. En este tipo de sistemas la liberación del principio activo no sigue un patrón determinado, ya que su distribución es heterogénea.



**Figura 4.** Representación esquemática de los diferentes sistemas de encapsulación: a) esfera simple, b) estructura agregada, c) estructura combinada y d) partículas irregulares (Gharsallaoui et al., 2007).

### Clasificación de las cápsulas por tamaño

En cuanto al tamaño de las cápsulas, éste depende, además de las condiciones y materiales de preparación, del uso que se les pretende dar. En ese sentido, en función de su tamaño, las cápsulas pueden clasificarse como macrocápsulas, microcápsulas, macropartículas y nanocápsulas (Rollot et al., 1986).

## **Microcápsulas**

Las microcápsulas se definen como pequeños empaques, generalmente esféricos, con diámetros comprendidos entre unos pocos micrómetros hasta milímetros (1-1000  $\mu\text{m}$ ); los cuales están formados por un material encapsulante (pared) y un material encapsulado (principio activo) (Thies, 2003). El tamaño y la forma de las micropartículas depende de las propiedades fisicoquímicas del material de la pared (monómeros y polímeros), de la composición de la pared y de la técnica de microencapsulación utilizada. Entre los principales procesos de microencapsulación se encuentran: secado por aspersion, aspersion a bajas temperaturas, deshidratación por congelación, confinamiento en liposomas, extrusión, coacervación, co-cristalización, revestimiento en suspensión aérea, separación por suspensión rotativa, polimerización interfacial y gelificación iónica, entre otros (Gharsallaoui et al., 2007).

Las microcápsulas se diferencian de las microesferas principalmente por el tipo de estructura interna. En el primer caso, el principio activo, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, se encuentra incluido en una especie de reservorio recubierto por una fina película de material. En el caso de las microesferas, el principio activo se encuentra altamente disperso bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas en una matriz de material que puede ser el mismo del recubrimiento. La obtención de un tipo de estructura u otro, depende de las propiedades fisicoquímicas del principio activo y del material de recubrimiento, así como del proceso de síntesis (Xiao Ying et al., 2011).

El contenido de las microcápsulas puede liberarse por diversos mecanismos (Reineccius, 1995): mediante la masticación, por solubilización, por cambios en el pH, por acción enzimática y por liberación térmica, todo ello en función del tipo de agente encapsulante y el sistema en el que va a utilizarse el producto microencapsulado.

La industria de alimentos y farmacéutica, aplica la microencapsulación por un gran número de razones (Shahidi y Han, 1993), entre algunas, se pueden mencionar las siguientes:

- Reducir la reactividad del núcleo en relación con el ambiente exterior.
- Disminuir la evaporación o velocidad de transferencia del material del núcleo hacia el ambiente.
- Promover un manejo más fácil del material del núcleo como prevenir apelmazamientos y convertir un líquido en una forma sólida.
- Controlar la liberación del material del núcleo.
- Enmascarar o preservar sabores y aromas.

### **Nanocápsulas**

La nanotecnología es un área emergente de la tecnología que se ocupa de la producción, procesamiento y aplicación de materiales de tamaño inferior a los 1000 nm. De acuerdo con la British Standards Institution la nanotecnología se ha definido como el diseño, la caracterización, la producción y la aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño a escala nanométrica, es decir del orden de  $10^{-9}$  m (Bagchi et al., 2013).

La nanoencapsulación es un proceso que implica atrapar agentes bioactivos dentro de materiales que sirven de soporte con una dimensión a nanoescala. Las aplicaciones de las nanotecnologías relacionadas con los alimentos ofrecen una amplia gama de beneficios para el consumidor, ya que permite ofertar alimentos más sanos y de mejor apariencia y sabor.

Los materiales más adecuados utilizados como recubrimiento para aplicaciones alimentarias a escala nanométrica son los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas. El uso de esta tecnología permite la reducción en el uso de conservantes, sal, grasa y tensoactivos, entre otros. Además, permite el desarrollo y mejoramiento de sabores, texturas y sensaciones en la boca, a través del procesamiento a nanoescala de los productos alimenticios. Esta técnica también permite incrementar la estabilidad de compuestos fácilmente degradables, como las vitaminas; o disminuir la evaporación y la degradación de bioactivos volátiles como aromas y sabores. También se usa para enmascarar sabores desagradables como los polifenoles o para proteger de la exposición a

la luz y al oxígeno a ácidos grasos insaturados, evitando así su foto-oxidación (Fathi et al., 2012).

Por otra parte, las nanoformulaciones también pueden mejorar la ingesta, absorción y biodisponibilidad de nutrientes y suplementos en el cuerpo. De esa manera, en la actualidad, la nanotecnología se ha enfocado al desarrollo de productos para el envasado, tales como empaques activos y/o inteligentes de principios activos (Fathi et al., 2012).

### **Materiales utilizados en la encapsulación**

La variedad de materiales que han usado para la encapsulación ha ido creciendo gradualmente en proporción con el desarrollo de nuevos biomateriales y con el mejoramiento de las técnicas de encapsulación.

La naturaleza de los materiales utilizados para el desarrollo de las cápsulas depende de la aplicación del producto final. Si la finalidad de las cápsulas es para consumo humano, entonces el material usado para fabricar las cápsulas deberá ser de grado alimenticio, biodegradable y capaz de formar una barrera entre la fase interna y su alrededor (Nedovic et al., 2011).

La elección de la cobertura, depende de varios factores, entre los que destacan los que se presentan a continuación (Madene et al., 2006):

- Especificaciones del producto que se quiere obtener.
- Naturaleza del núcleo o principio activo.
- Proceso de encapsulación que se va a utilizar.
- Costos.
- Si el material de cobertura se encuentra probado por la legislación aplicable al alimento.

Cada grupo de materiales usados como encapsulantes tiene ventajas y desventajas; en algunos casos se usan de manera individual. Sin embargo, muchas de las cubiertas que se utilizan actualmente son formulaciones compuestas por mezclas.

Así, los materiales encapsulantes pueden ser gomas, carbohidratos, celulosas, lípidos, proteínas y materiales inorgánicos (Pedroza, 2002). En el Cuadro 1 se presentan los diferentes materiales comúnmente usados en la fabricación de capsulas.

**Cuadro 1.** Materiales utilizados en la encapsulación (Desai y Park, 2005).

<b>Material encapsulante</b>	<b>Cobertura específica</b>
Gomas	Acacia, agar, alginato de sodio, carragenina
Carbohidratos	Almidón, maltodextrinas, quitosano dextranos, sacarosa, jarabes de maíz
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, caboximetil-celulosa
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteárico, triestearina
Proteínas	Gluten, caseína, albumina
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos

### **Grasas**

Las grasas más usadas como material encapsulante son la cera de carnauba, el alcohol estearílico y el ácido esteárico. Éstas son grasas que funden al elevar la temperatura y son erosionables por acción de las lipasas que existen a nivel gástrico (Pedroza, 2002).

### **Proteínas**

Las proteínas, tales como la gelatina, caseinatos, suero de leche y zeína, entre otros, son biopolímeros muy complejos y de gran diversidad funcional debido a su naturaleza química. Su conformación puede modularse por el proceso de encapsulado. Por ejemplo, en el proceso de encapsulación por coacervación, el tamaño de las cápsulas puede variar con cambios en el pH que modifiquen las densidades de carga de la gelatina, dando lugar a moléculas expandidas o

contraídas en función de las fuerzas de repulsión intramoleculares. La gelatina fue el primer material utilizado en encapsulación y en la actualidad sigue siendo un material con un importante potencial. La albúmina es otro ejemplo de proteína que se aplica en la microencapsulación (Pedroza, 2002).

### **Polímeros**

Estos materiales son los más utilizados en la encapsulación. Se pueden dividir entre polímeros naturales, semisintéticos y sintéticos. Los polímeros naturales son principalmente de naturaleza polisacáridica, de origen animal y vegetal. Entre los polímeros naturales más usados como encapsulantes destacan el alginato, el dextrano, la goma arábiga y el quitosano. Los polímeros semisintéticos engloban los derivados celulósicos, de los cuales existe una amplia variedad en el mercado con diferentes características de solubilidad; la etilcelulosa y el acetobutirato de celulosa estos son polímeros insolubles, mientras que el acetofalato de celulosa presenta una solubilidad que depende del pH. Los polímeros sintéticos más destacados son los derivados acrílicos y poliésteres (Madene et al., 2006).

### **Alginato de sodio**

El alginato es un polisacárido muy abundante en el mar. Este se encuentra presente en gran cantidad, aproximadamente 40% en peso seco, en la matriz extracelular de las algas pardas de la clase *Phaeophyceae* y en menor proporción, en las cápsulas de bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Pseudomonas*. El alginato cumple, principalmente, una función estructural pues brinda resistencia mecánica y flexibilidad a la vez.

La capacidad de gelificación del alginato es aprovechada en diversas industrias, tales como la textil, la alimentaria y la farmacéutica. Por otro lado, en el ámbito académico, existen diversos estudios sobre posibles aplicaciones del alginato en campos como la medicina y la biotecnología (Donati, 2009; Draget, 2009).

### **Técnicas de encapsulación**

Han sido propuestos diversos métodos para la producción de cápsulas, estos pueden ser divididos en tres grupos:

- **Procesos físicos:** Se trata de procesos en los que el mecanismo de encapsulado es de tipo físico sin involucrar cambios en las propiedades químicas del principio activo a encapsular. En estos procesos se encuentran el secado por aspersión, la extrusión y el recubrimiento por aspersión.
- **Procesos fisicoquímicos:** En este caso se involucra interacciones químicas débiles, de la naturaleza de Fuerzas de Van der Waals o puentes de hidrógeno. Los procesos fisicoquímicos más usados en encapsulación son los de cambios en agregación micelar (o coacervación) y encapsulamiento en liposomas.
- **Procesos químicos:** En estos procesos se involucran cambios químicos en el material encapsulante; destacan la polimerización y la inclusión molecular (Nedovic et al., 2011).

La selección del proceso de encapsulación para una aplicación determinada debe tomar en consideración varios factores: el tamaño de la partícula requerida, las propiedades fisicoquímicas del agente encapsulante y la sustancia a encapsular, las aplicaciones para el material encapsulado, el mecanismo de liberación deseado y el costo (Madene et al., 2006).

A continuación, se describen algunas de las técnicas de mayor difusión y uso por parte de la industria en la producción de productos encapsulados.

### **Secado por aspersión**

Esta es una de las técnicas de encapsulación más antiguas y utilizadas en el sector de la industria alimenticia. Es una técnica flexible, continua y económica que produce partículas de buena calidad. Esta característica es deseable desde el punto de vista sensorial y de textura del producto final, además, esta técnica es apropiada para encapsular materiales que se degradan con el calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es corto (5-30 segundos) (Jafari et al., 2008). Durante este proceso, la evaporación del solvente es rápida y el encapsulamiento de los compuestos de interés ocurre casi instantáneamente. El

secado por aspersión es una operación unitaria mediante la cual un producto líquido se atomiza en una corriente de gas caliente para obtener instantáneamente un polvo. El gas generalmente utilizado es aire, aunque puede usarse un gas inerte, como el nitrógeno. El líquido inicial que alimenta el rociador puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. El secado por aspersión puede producir un polvo muy fino con un tamaño de partícula que comprende de 10 a 50  $\mu\text{m}$ ; o bien, tamaños grandes que pueden ser de 2 a 3 mm. Lo anterior dependerá del material de alimentación inicial y de las condiciones de operación. La morfología de las microcápsulas puede variar, ser desde esferas simples con un recubrimiento de grosor uniforme, hasta partículas irregulares tanto en su interior como en su exterior. En el centro puede quedar atrapada una o varias matrices y los recubrimientos pueden estar formados por más de una capa (Gharsallaoui et al., 2007).

### **Aspersión en frío o congelación**

Las técnicas de aspersión a bajas temperaturas se utilizan cuando el agente encapsulante es un lípido y se puede aplicar en los siguientes casos:

1. La dispersión de ingredientes solubles en agua en una grasa fundida o cera.
2. La disolución del agente activo en el lípido.
3. La suspensión del principio activo como partículas sólidas o como emulsión acuosa. -

En la aspersión en frío, la dispersión se realiza a través de inyectores con calefacción dentro de una cámara a temperatura ambiente o temperatura de refrigeración. En este caso, las partículas se mantienen a una temperatura baja en una configuración similar a la aspersión en lecho fluidizado. Mediante esta técnica se pueden obtener altos rendimientos y se puede correr en los modos de procesamiento en lote o continuo (Nedovic et al., 2011).

En la aspersión a temperaturas de congelación, el material a encapsular es mezclado con el acarreador y es atomizado por medio de aire frío. Las microcápsulas son producidas por nebulización de la emulsión o suspensión que

contiene el material de la pared y la sustancia activa puede ser sólida o líquida. Las coberturas empleadas usualmente son aceites vegetales. La reducción de la temperatura produce una solidificación del lípido de recubrimiento que logra atrapar a la sustancia activa en el centro de la cápsula. Los métodos de aspersión por enfriamiento son usualmente empleados para encapsular compuestos químicos como sulfato de fierro, vitaminas, minerales, acidulantes, sabores, productos aromáticos para panadería, sopas en polvo y alimentos que contienen alto nivel de grasa (Parra, 2010).

### **Extrusión**

El método de extrusión es el proceso más usado, después del secado por aspersión, para el encapsulado de sabores. La microencapsulación por extrusión involucra el paso de una emulsión del principio activo y el material encapsulante a través de un conducto a alta presión (Parra, 2010). Mientras menor sea el diámetro interior del conducto o boquilla, más pequeñas son las cápsulas obtenidas (De Vos et al., 2010). A nivel laboratorio se puede usar como sistema de goteo una pipeta, una jeringa o la boquilla de un atomizador (Nedovic et al., 2011). La producción de gotas en grandes volúmenes se puede lograr mediante el uso de sistemas de boquillas múltiples, o con un atomizador de disco giratorio. Una de las principales ventajas de la tecnología de extrusión es que, en la mayoría de los casos, se logra un verdadero procedimiento de encapsulación en lugar de una simple inmovilización (De Vos et al., 2010). Las tecnologías de extrusión tienen muchas ventajas para la encapsulación de microorganismos ya que es relativamente suave, no necesita de disolventes perjudiciales y se puede hacer tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. La tecnología de extrusión también se ha aplicado encapsular sabores, enzimas y proteínas (De Vos et al., 2010).

### **Inclusión molecular**

La inclusión molecular en ciclodextrinas y vesículas liposomales es otra alternativa tecnológica para encapsular principios activos. Sin embargo, puesto que es una técnica más costosa, es menos usada. En la inclusión molecular se

suelen usar ciclodextrinas, en cuya estructura interna se forma una cavidad lipofílica de aproximadamente 5 a 8 Å, en la cual una molécula activa con el tamaño correcto se atrapa reversiblemente en un ambiente acuoso. El pequeño tamaño del anillo que forma el hueco limita su capacidad. Los liposomas son partículas con un tamaño de 30 nm a varios micrones. El mecanismo para la creación de liposomas se basa en interacciones hidrofílicas-hidrofóbicas entre fosfolípidos y moléculas de agua (Nedovic et al., 2011).

### **Emulsión**

El procedimiento de encapsulación mediante emulsificación es otra técnica utilizada frecuentemente con agentes activos de alimentos solubles en agua. Se considera la existencia de dos tipos de emulsiones: emulsiones sencillas de agua-aceite o aceite-agua y emulsiones dobles agua-aceite-agua. Una emulsión aceite en agua puede secarse por diferentes métodos, tales como aspersión o liofilización y producen un polvo. Las emulsiones secas se pueden encapsular por otros métodos (Nedovic et al., 2011).

### **Liofilización**

Los procesos de secado al vacío y deshidratación por congelación son muy similares. El primero es más rápido y económico porque trabaja a temperatura arriba del punto de congelación del solvente. La principal desventaja del secado por congelación es el alto consumo de energía y el prolongado tiempo de procesamiento. Además, durante el procesamiento, se forma una barrera con una estructura porosa entre el agente activo y su alrededor. Esta pared de alta porosidad ofrece una protección pobre cuando se requiere una liberación prolongada del principio activo (Nedovic et al., 2011).

### **Gelificación iónica**

Esta técnica se desarrolló inicialmente para la inmovilización de células, se utiliza principalmente el alginato como componente de la membrana y se utiliza la combinación de iones divalentes como el calcio o bario para inducir la gelificación. Esta interacción es un entrecruzamiento iónico divalente entre los iones de la molécula divalente y las unidades de ácido gulurónico de alginato, dando lugar a

un gel conocido como modelo de caja de huevo. El alginato al entrar en contacto con los iones de calcio forma un gel instantáneamente; los iones se siguen difundiendo en el alginato, produciendo el endurecimiento del gel con el paso del tiempo de interacción. Basado en el peso del alginato, se requiere de 7.2% de calcio para lograr una sustitución completa; sin embargo, con solo 2.2% de calcio se logra la formación del gel (Pedroza, 2002).

### **Encapsulación de compuestos con actividad funcional**

El aumento en la demanda de alimentos saludables ha provocado el desarrollo de nuevos aditivos e ingredientes alimentarios. Sin embargo, el reto es asegurar que estos ingredientes permanezcan efectivos durante la elaboración y el almacenamiento del producto (Onwulata, 2011).

Los alimentos pueden ser utilizados como un vehículo eficaz para la entrega de compuestos bioactivos y micronutrientes en los niveles adecuados. Dentro de los ingredientes funcionales de mayor importancia utilizados en la preparación de alimentos se encuentran los antioxidantes, ingredientes orgánicos, ácidos grasos Omega-3, fibra, minerales y probióticos, entre otros (Day et al., 2009).

El desequilibrio entre la generación de especies oxidantes (radicales libres y otras especies reactivas) y la acción de los sistemas de defensa antioxidante del organismo, es una de las causas más importantes en la generación de enfermedades (Moure et al., 2001; Zhang y Kosaraju, 2007). Por esta razón, el desarrollo de alimentos funcionales que contribuyan a contrarrestar la agresión oxidativa y sus efectos adversos es uno de los desafíos más ambiciosos de esta industria.

El uso de los polifenoles encapsulados en lugar de usarlos en su forma libre pueden contrarrestar sus desventajas de inestabilidad, puede además disminuir el sabor desagradable y mejorar la biodisponibilidad y vida útil del compuesto (Fang y Bhandari, 2010; Munin y Edwards-Lévy, 2011).

En el Cuadro 2 se muestra un resumen de los diferentes tipos de antioxidantes naturales que han sido encapsulados, así como los materiales encapsulantes y las técnicas empleadas.

**Cuadro 2.** Ejemplos de encapsulación de compuestos antioxidantes.

<b>Compuesto activo</b>	<b>Material encapsulante</b>	<b>Técnica de encapsulación</b>	<b>Tamaño cápsula</b>	<b>Referencia</b>
Aceite de oliva	$\beta$ -Ciclodextrina/ Alginato	Inclusión molecular / Extrusión	781 $\mu\text{m}$	(Belščak-Cvitanović et al., 2011; Ourtzinos et al., 2007)
Catequina	Quitosano/ $\beta$ - Ciclodextrina	Gelificación iónica / Inclusión molecular	-	(Ishikawa et al., 2007; Zhang et al., 2010)
Extractos de <i>Myrtus communis</i>	Liposomas	Emulsión	285 nm	(Gortzi et al., 2008)
Extracto de <i>Piper sarmentosum</i>	Alginato	Emulsión	51-71 $\mu\text{m}$	(Chan et al., 2002; Yim et al., 2010)
Extractos de plantas medicinales	Alginato	Gelificación iónica	443-750 $\mu\text{m}$	(Belščak-Cvitanović et al., 2011; Stojanovic et al., 2012)
Extractos de propóleo	Proteínas de soya, Pectina	Coacervación compleja	10 $\mu\text{m}$	(Nori et al., 2011)
Extracto de Yerba Mate	Maltodextrina y goma arábica	Gelificación iónica/ Co-cristalización/ Spray drying	-	(Anbinder et al., 2011; Deladino et al., 2008)
Pulpa de mora	Maltodextrina y goma arábica	Spray drying	74- 200 $\mu\text{m}$	(Ferrari et al., 2012)
Té verde	Etil celulosa / Liposomas	Emulsión	-	(Yan et al., 2018)

### **Aplicación biológica de cápsulas**

Hasta el presente, la mayor desventaja de los tratamientos que implican transporte de fármacos, es la inadecuada distribución del principio activo y su potencial degradación en su paso por el tracto digestivo (Grande, 2007). Así, las micro y nanocápsulas han sido visualizadas como potenciales acarreadores de fármacos que no puedan administrarse por vía oral: como son los nuevos fármacos producto de la revolución biotecnológica, proteínas, péptidos, hormonas o enzimas, los cuales son degradados fácilmente por las enzimas del tracto gastrointestinal (Sáez et al., 2004).

Para la liberación controlada de fármacos es necesaria la previa encapsulación o desactivación de los compuestos activos, para que no actúen durante su tránsito por el cuerpo hasta llegar al lugar afectado, de forma que mantengan intactas sus propiedades fisicoquímicas y que se minimicen posibles efectos secundarios en otras zonas del cuerpo. Una vez que el fármaco ha llegado a su destino, debe liberarse a una velocidad apropiada para que sea efectivo, lo cual se puede hacer mediante una variación de ciertas condiciones (pH, temperatura, etc.) en la zona dañada, o mediante un control preciso de la velocidad de degradación del material encapsulante, permitiendo que la liberación del fármaco sea controlada (Lechuga, 2010).

Los fármacos terapéuticos se administran en forma intravenosa y por lo tanto se distribuyen en el torrente sanguíneo, con el consecuente efecto no deseado de que atacan todo tipo de células, incluidas las sanas. Por ejemplo, los efectos secundarios de la administración de productos anti-inflamatorios en pacientes con artritis crónica conllevan a la suspensión de su uso; sin embargo, si su aplicación pudiera localizarse sólo en la parte afectada, entonces podría aplicarse una droga potente y efectiva de forma continua.

Las técnicas actuales de producción y caracterización de micro y nanocápsulas han permitido descubrir un nuevo mundo de propiedades físicas que no pueden explicarse con los esquemas clásicos bien establecidos en la teoría de la materia condensada. El tamaño de las micro y nanocápsulas y su capacidad para enlazar

moléculas orgánicas permite su utilización como transportador de fármacos a sitios específicos dentro del organismo (Grande, 2007).

### **Liberación controlada**

La liberación controlada puede definirse como el mecanismo por el cual uno o más compuestos se pueden administrar a un sitio específico, en un tiempo y velocidad modulada (Mastromatteo et al., 2010).

Los mecanismos más importantes que regulan la velocidad de liberación de un compuesto activo son: difusión, hinchamiento, biodegradación/erosión y presión osmótica. La relevancia de cada uno de ellos dependerá en gran medida de la composición de la matriz polimérica y del medio circundante, por lo que el agente activo puede ser liberado al medio por uno o por varios mecanismos actuando simultáneamente (Barba et al., 2008).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Colecta de muestras y obtención de los extractos**

Las muestras de material vegetal de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* fueron colectadas al azar en una zona semiárida al sur del estado de Coahuila, México (Jasso de Rodríguez et al., 2007). Las muestras se depositaron en bolsas de plástico y se transportaron al Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Una vez en el laboratorio, las muestras fueron sometidas a secado en estufa (Mapsa, México) a 60° C durante 48 h. Después del secado, se separaron las hojas de los tallos y ambos tejidos fueron molidos por separado en un molino Thomas Wiley (Swedesboro, NJ, EE. UU.) y tamizados a un tamaño de luz de 2 mm. El material ya molido se almacenó en bolsas de polietileno hasta los ensayos posteriores.

### **Extractos de etanol de *Flourensia* spp.**

En el presente trabajo el estudio se realizó sobre los extractos etanólicos de hojas de las tres especies (*F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*). La obtención de los extractos se realizó por el método Soxhlet de la siguiente manera: se colocaron 14 gr de una muestra de hojas secas y molidas en un papel filtro Whatman No. 1, el papel filtro con la muestra se colocó en el interior de un extractor Soxhlet y se sometió a reflujo con 200 mL de etanol por 70 h. Una vez transcurrido el tiempo de extracción el solvente fue separado mediante evaporación rotatoria (Buchi R-200) hasta sequedad del extracto. Finalmente, el extracto fue sometido a secado en estufa a 50 °C por 4 h para eliminar el solvente remanente (Jasso de Rodríguez et al., 2017b). Los extractos así obtenidos fueron pesados y almacenados en frascos ámbar perfectamente cerrados y se mantuvieron en desecador a 25 °C y 0% de humedad relativa hasta su uso en los ensayos subsecuentes.

### **Encapsulado de los extractos por gelificación**

El encapsulamiento de extractos de *Flourensia* spp. se realizó siguiendo una metodología descrita por Calero et al. (2008), con ligeras modificaciones. En

primer lugar, se preparó una solución diluyendo 3 g de alginato de sodio en 100 mL de agua destilada, la cual se aforó a 200 mL; a continuación, se agregaron 500 mg de extracto de *Flourensia* spp. (Solución A). El mismo procedimiento se llevó a cabo para cada extracto de *Flourensia*. La mezcla se agitó constantemente hasta la disolución completa. Por otra parte, se preparó la “solución B” diluyendo 3 g de cloruro de calcio en 200 mL de agua destilada. La “solución A” se colocó en un embudo de separación para dar inicio a la preparación de las cápsulas por el método de goteo. Las gotas se dejaron caer dentro de la solución de cloruro de calcio, para la formación de las cápsulas. Las cápsulas obtenidas se separaron en dos lotes, uno de ellos se sometió a secado a temperatura ambiente (s = microcápsulas secas) y el segundo se mantuvo en suspensión (f = microcápsulas frescas) hasta un procesamiento posterior.

Para aclarar, la concentración de los extractos utilizados en el proceso de encapsulación se seleccionó de acuerdo con pruebas preliminares (datos no mostrados).

Con la finalidad de obtener cápsulas con menor tamaño de partícula, las cápsulas obtenidas anteriormente fueron sometidas a dos tratamientos:

- 1) Un lote de cápsulas en suspensión salina fue tratado con un homogeneizador comercial Braun a velocidad media durante un minuto. Bajo este tratamiento se obtuvieron cápsulas de tamaño micrométrico.
- 2) Para la obtención de nanocápsulas la suspensión salina de cápsulas frescas fue sometida a tratamiento ultrasónico (Ultrasonido UP400ST) durante 30 minutos.

### **Encapsulado de los extractos por emulsificación**

Para la preparación de los encapsulados por el método de emulsificación, en primer lugar, se preparó una mezcla de 240 mL de ácido oléico, agregando 60 mL de Tween 20; a continuación, se agregaron 500 mg de los extractos de *Flourensia* spp. La mezcla obtenida se colocó en baño de ultrasonido hasta que se disolvió totalmente el extracto. Una vez que se hubo disuelto el extracto en la mezcla de ácido oleico y tween, se procedió a la formación de la emulsión en

agua usando un equipo UP4000 manteniendo en funcionamiento el equipo durante 30 minutos.

### **Caracterización de extractos y encapsulados de *Flourensia* spp.**

#### **Contenido de fenoles totales (TPC)**

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1991), adaptado a microplaca. Para todos los análisis, se colocaron 5  $\mu\text{L}$  de muestra en una microplaca de 96 pozos. Posteriormente, a cada pozo se añadieron 60  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu, 15  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7.5% y 200  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La reacción se incubó a 60 °C durante 5 min. Inmediatamente después se midió la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro UV/vis (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc. EUA). El valor del contenido de fenoles totales se obtuvo usando una curva de calibración, usando ácido gálico como estándar. Los valores obtenidos se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 mg de muestra (mg EAG/100 mg muestra).

#### **Actividad antioxidante por el método DPPH**

La cuantificación de la capacidad de captación de radicales libres de los extractos se determinó por colorimetría midiendo el grado de decoloración que provocan los componentes del extracto a una solución metanólica de DPPH, de acuerdo a los métodos descritos por Ballesteros et al. (2015) con modificaciones. La reacción se llevó a cabo en una microplaca de 96 pocillos, colocando en cada pozo 30  $\mu\text{L}$  de extracto y 270  $\mu\text{L}$  de solución de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (10<sup>-4</sup> M, disuelto en metanol hasta un valor de absorbancia de 0.70 $\pm$ 0.01 a 515 nm) e incubando a temperatura ambiente y en oscuridad durante 1 h. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se midió la absorbancia a 515 nm en un lector espectrofotométrico de microplaca (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc., EE. UU.). Como control se usó metanol en lugar de la muestra de extracto. La actividad de captación de radicales se calculó utilizando la ecuación (1), donde

$A_0$  y  $A_s$  son la absorbancia de la solución de control y la absorbancia de la solución de muestra, respectivamente (Ballesteros et al., 2015).

$$\%Inhibición = \left(1 - \frac{A_s}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

### **Actividad antioxidante por el método FRAP**

Este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico ( $Fe^{+3}$ ), presente en el compuesto 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa ( $Fe^{+2}$ ), el cual presenta un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590-595 nm. El ensayo se realizó de acuerdo con el método descrito por Benzie y Strain (1996). Se preparó una disolución de FRAP de 1:1:10 de TPTZ:  $FeCl_3$ : acetato de tampón (en ese orden). Posteriormente, se prepararon diluciones a partir de las soluciones de trabajo, de forma que 200  $\mu$ L de *Flourensia* spp. fueron mezclados con 3 mL de la disolución de FRAP, después de mantener en reposo la reacción por 30 minutos a una temperatura de 37 °C, se leyó la absorbancia a 593 nm.

### **Actividad antioxidante por el método de decoloración radical de cationes del 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6- sulfonato de amonio) (ABTS)**

Este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical  $ABTS^{\bullet+}$  del 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6- sulfonato de amonio) (ABTS). Esto se da por la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical catiónico  $ABTS^{\bullet+}$  es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Las mediciones se realizan por colorimetría a una longitud de onda de 734 nm, el ensayo de decoloración radical de cationes (ABTS) de los extractos se determinó según lo descrito por Ballesteros et al. (2015) con algunas modificaciones. Los ensayos se realizaron combinando 10  $\mu$ L de extracto con 200  $\mu$ L de solución de catión radical ABTS. Las soluciones resultantes se mantuvieron durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente y luego se midió la absorbancia a 734 nm. Se utilizó etanol como

solución de control en lugar de la muestra. El catión radical ABTS se preparó mezclando 7 mM de ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) diamonio (ABTS) disuelto en agua con una solución de persulfato de potasio 2.45 mM, mezclado y dejado en la oscuridad 4 °C entre 14-16 h para lograr un estado oxidativo estable. Después de este tiempo, la solución de catión radical de ABTS se diluyó en una solución de tampón de acetato 20 mM (pH 4.5) hasta una absorbancia de  $0.70 \pm 0.01$  a 734 nm. El porcentaje de inhibición del catión radical ABTS se calculó utilizando la misma ecuación empleada en la eliminación de radicales DPPH.

## **Caracterización de extractos encapsulados**

### **Viscosidad de alginato**

Se realizó la prueba de viscosidad a la mezcla de alginato de sodio a temperatura ambiente, obteniendo la densidad de este. Se utilizó una esfera de cristal a la cual se le midió el diámetro y masa, se midió el diámetro de una probeta de 50 mL y se obtuvo el radio a continuación se colocó la mezcla del alginato en la probeta y con un cronometro se determinó la rapidez de la caída de la esfera a través del alginato de sodio. Para la determinación de la viscosidad se utilizó la ecuación (2):

$$\eta = \frac{\left(m - \frac{4\pi R^3 \rho}{3}\right)g}{6\pi Rv\left(1 + 2.4\frac{R}{R_1}\right)} \quad (2)$$

Donde m representa la masa de la esfera, R el radio de la esfera, densidad del alginato de sodio, v la velocidad,  $R_1$  el radio de la probeta y g la gravedad.

### **Eficiencia de encapsulación**

La eficiencia de encapsulación (% EE) se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$EE (\%) = \frac{TPC_{total} - TPC_{libre}}{TPC_{total}} \times 100 \quad (3)$$

donde  $TPC_{total}$  representa la cantidad total de compuestos fenólicos totales iniciales presentes en la muestra agregada durante la producción de microcápsulas, y  $TPC_{libre}$  los compuestos fenólicos totales libres detectados en la microcápsula.

### **Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La estructura y el tamaño de las microcápsulas se determinaron mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM), utilizando un microscopio Phillips XL30 ESEM (Eindhoven, Países Bajos). Para registrar las micrografías SEM, las microcápsulas se colocaron en un soporte de acero inoxidable, seguido de un secado a temperatura ambiente; luego se recubrieron con una fina capa de oro (40-50 nm) y se examinaron utilizando un voltaje de aceleración de 5 kV.

### **Análisis de microscopía óptica**

El tamaño y morfología de las micro y nanocápsulas fueron observadas mediante un microscopio óptico marca Zeiss utilizando objetivos de 10x y 40x. Las cápsulas se colocaron en una caja Petri para su correcta observación.

### **Análisis de Infrarrojo**

Los espectros de infrarrojo de los encapsulados de *Flourensia* spp. se realizaron en un Perkin Elmer Spectrum IR versión 10.6.0. Las muestras de los encapsulados fueron analizadas sin ningún tratamiento en especial.

### **Análisis térmico**

Las propiedades de transición térmica del alginato puro y las microcápsulas secas (20 mg) se analizaron utilizando un Calorímetro de barrido diferencial (DSC) con análisis termogravimétrico (TGA) en un análisis térmico simultáneo SDT Q600 analizador V20.9 (New Castle, DE, EE. UU.). Los termogramas se obtuvieron a una velocidad de barrido de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  en un rango de temperatura de 30-900°C.

### **Ensayo de liberación del extracto *In vitro***

Se llevó a cabo simulando un modelo de jugos gástricos utilizando NaCl (9 g·L<sup>-1</sup>) a pH de 1-3, se colocaron 20 mL de las cápsulas por 2 horas y se leyó la absorbancia a 194 nm.

En el modelo de jugos intestinales se usó una solución de NaCl (6 g·L<sup>-1</sup>), KCl (0.8 g·L<sup>-1</sup>), CaCl<sub>2</sub> (0.2 g·L<sup>-1</sup>), NaHCO<sub>3</sub> (1.4 g·L<sup>-1</sup>), a pH de 6.5–7.5; se colocaron 20 mL del extracto encapsulado, después de 4 horas se leyó la absorbancia a 194 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (Roldán-Juárez y Jiménez-Munguía, 2013).

Con el objetivo de simular el pasaje de las macrocápsulas de *Flourensia* spp. por el tracto digestivo se prepararon las siguientes soluciones:

Para las condiciones gástricas, se colocaron 20 g de cada extracto encapsulado, en una solución de NaCl al 0.5% en matraces, y el pH se ajustó a 1–3 utilizando HCl 0.1 M. Los matraces se incubaron a 37 °C durante 2 h, con agitación de aproximadamente 110 rpm (Gbassi y Vandamme, 2012).

Los extractos encapsulados se sacaron del modelo de jugos intestinales y se filtraron, a continuación se colocaron en el modelo de jugos intestinales que se utilizó una solución de NaCl (6.5 g/L), KCl (0.8 g/L), CaCl<sub>2</sub> (0.2 g/L), NaHCO<sub>3</sub> (1.4 g/L) con un pH de 6.5 – 7.5, y las muestras se volvieron a incubar a 37 °C bajo agitación durante 20 h. La liberación del extracto se determinó a partir de mediciones espectrofotométricas a alícuotas recogidas a las 2, 4, 6, 8 y 20 h. La medición de absorbancias se hizo a una longitud de onda de 194 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS Hach DR5000 (Nejati et al., 2011). Los ensayos se hicieron por triplicado.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó a través del análisis de varianza (ANOVA) ( $p < 0.05$ ), y la prueba de comparación de medias se realizó utilizando la prueba de Tukey ( $p = 0.05$ ) con el software "R" V 3.2.0. Los modelos se ajustaron a los datos de liberación *in vitro* mediante regresión no lineal, utilizando el software STATISTICA™ v7.0 (Statsoft Inc., EE. UU.).

## RESULTADOS

### TPC y actividad antioxidante de extractos de *Flourensia* spp. y extractos microencapsulados

Los resultados mostraron que la concentración de polifenoles y la actividad antioxidante de los extractos microencapsulados siguen la misma tendencia que los extractos crudos (Cuadros 3 y 4).

Para el TPC de los extractos de etanol de las especies de *Flourensia* en estudio, el ANOVA mostró diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ), siendo mayor para *F. retinophylla*, seguido de *F. microphylla*, y *F. cernua*, con valores de  $63.5 \pm 2.0$ ,  $46.9 \pm 1.7$ , y  $30.1 \pm 0.2$  mg de extracto de GAE  $100 \text{ mg}^{-1}$ , respectivamente (Cuadro 3). De forma similar, se observó el mayor contenido de compuestos fenólicos para las microcápsulas de extracto de *F. retinophylla* (Cuadro 4). Sin embargo, la actividad antioxidante más fuerte ( $p < 0.05$ ) se detectó tanto para el extracto como para las microcápsulas de *F. microphylla*, siendo este comportamiento presentado con todos los diferentes métodos utilizados para la determinación de antioxidantes (DPPH, ABTS y FRAP). Cabe destacar que esta actividad se mantuvo similar para el extracto crudo y en su forma encapsulada; que puede estar asociada a la presencia de ciertos compuestos (por ejemplo, flavonoles y ácidos cafeico) identificados en el extracto con estabilidad elevada y potencial antioxidante (Jasso de Rodríguez et al., 2017a). Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Jasso de Rodríguez et al. (2017a) quien reportó que *F. microphylla* presenta 69% de inhibición, así mismo Wong-Paz et al. (2004) reportó para *F. cernua* un porcentaje de 50.70% de inhibición.

Los extractos microencapsulados presentaron un contenido fenólico casi dos órdenes más bajo que los extractos crudos. Esto puede deberse a la presencia de una interacción entre la estructura polimérica del alginato y los compuestos químicos presentes en los extractos, lo que genera una protección de la microcápsula al extracto (Li et al., 2007).

**Cuadro 3.** Contenido fenólico total (TPC) y actividad antioxidante de los extractos etanólicos de hojas de *Flourensia* spp.

Extractos etanólicos	TPC (mg GAE 100 mg <sup>-1</sup> )	Actividad antioxidante		
		DPPH (%)	ABTS (%)	FRAP (mM Fe <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )
<i>F. cernua</i>	30.1 ± 0.2 <sup>c</sup>	43.3 ± 1.6 <sup>b</sup>	32.5 ± 1.3 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>b</sup>
<i>F. microphylla</i>	46.9 ± 1.7 <sup>b</sup>	85.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	92.5 ± 0.3 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.2 <sup>a</sup>
<i>F. retinophylla</i>	63.5 ± 2.0 <sup>a</sup>	44.1 ± 1.0 <sup>b</sup>	39.0 ± 8.3 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.0 <sup>b</sup>

Los valores en la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Los valores reportados son la media de la desviación estándar.

**Cuadro 4.** Contenido fenólico total (TPC) y actividad antioxidante de los extractos microencapsulados de *Flourensia* spp.

Extractos encapsulados	TPC (mg GAE 100 mg <sup>-1</sup> )	Actividad antioxidante		
		DPPH (%)	ABTS (%)	FRAP (mM Fe <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )
<i>F. cernua</i>	0.5 ± 0.0 <sup>c</sup>	3.9 ± 0.6 <sup>c</sup>	12.2 ± 1.3 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>b</sup>
<i>F. microphylla</i>	0.7 ± 0.0 <sup>b</sup>	84.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	50.2 ± 1.2 <sup>a</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>a</sup>
<i>F. retinophylla</i>	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	7.6 ± 0.5 <sup>b</sup>	12.3 ± 1.1 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>b</sup>

Los valores en la misma columna seguidos por letras diferentes son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Los valores reportados son la media de la desviación estándar.

### Eficacia de la encapsulación

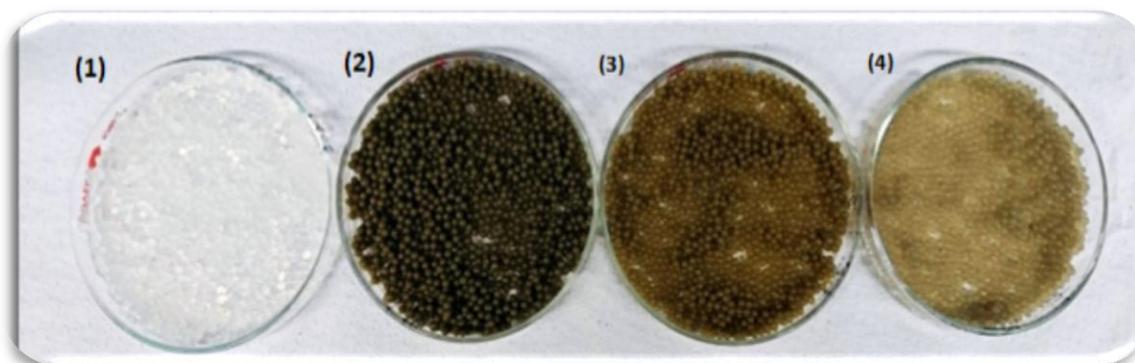
La eficiencia de encapsulación de los extractos microencapsulados fue, en general, elevada para todas las especies, con valores de 99.3 ± 0.0, 99.7 ± 0.0 y 99.7 ± 0.0% para *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*, respectivamente. da Rosa et al. (2014) sugirieron la dependencia del %EE con el material de recubrimiento utilizado para la encapsulación, ya que observaron diferentes

valores de %EE (aproximadamente 46.5-75.5%) cuando se encapsularon compuestos fenólicos de arándanos en diversas matrices ( $\beta$ -ciclodextrina, quitosán, xantano e hidrogel). Además, la composición y el tipo de material del núcleo influyen en la eficiencia de la encapsulación, ya que se ha informado de que las moléculas con una hidrofobicidad elevada y un tamaño más pequeño presentan una mayor afinidad por el material de recubrimiento (Fang y Bhandari, 2010). Por su parte, Hu et al. (2019) detectaron un %EE en el rango de 14.4 a 27.9% dependiendo de los cítricos utilizados como fuente de flavonoides, y asociaron este efecto con la solubilidad de los flavonoides en la matriz de encapsulación (concentrado de proteína de suero). Por lo tanto, los altos valores obtenidos para el %EE en el estudio de esta tesis demostraron la capacidad del alginato para hospedar los compuestos presentes en los extractos de las especies de *Flourensia* en estudio, así como la interacción entre los componentes; que podría realizarse a través de enlaces de hidrógeno (Sanna et al., 2015).

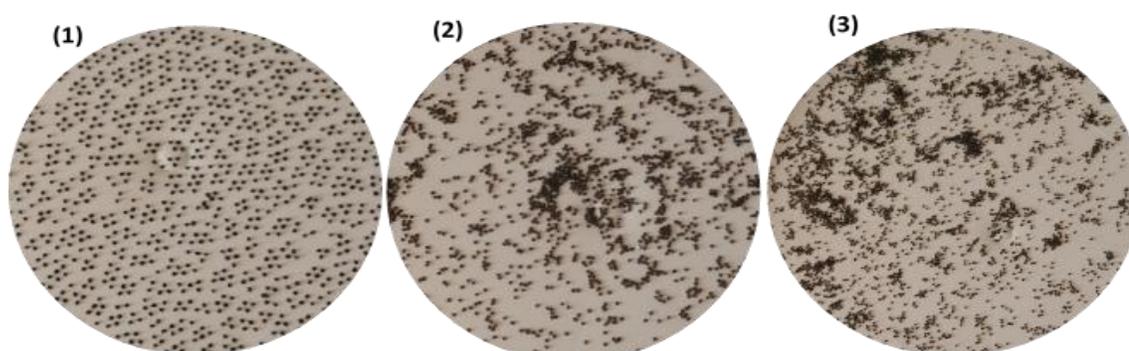
## **Encapsulado por gelificación**

### **a) Macrocápsulas**

Se obtuvieron macrocápsulas por el método de gelificación de los extractos de *Flourensia cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* con formas redondeadas con diámetros de 3 mm (Fig. 5); se observó que en el cloruro de calcio el principio activo de las cápsulas empezó a liberarse por lo que se lavaron con agua oxigenada para evitar la liberación, a continuación, se secaron las cápsulas obteniendo una forma redondeada irregular (Fig. 6). Este resultado se puede comparar con lo reportado por Aguirre Calvo y Santagapita (2016) quienes obtuvieron diámetros desde 2.2 mm hasta 2.7 mm en cápsulas de alginato de azúcares y biopolímeros. Así mismo Calero y colaboradores (2008) reportaron cápsulas de tamaño promedio de 1.6 mm encapsulando Diclonfenac por el método de gelificación iónica, nombrándolas microcápsulas.



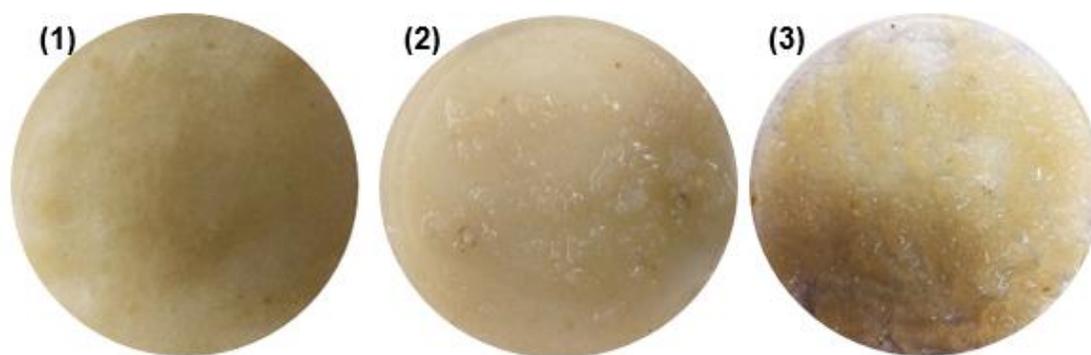
**Figura 5.** Macrocápsulas de alginato de sodio (1), encapsulados de *F. microphylla* (2), encapsulados de *F. retinophylla* (3) y encapsulados de *F. cernua* (4).



**Figura 6.** Macrocápsulas secas de *F. microphylla* (1), *F. retinophylla* (2) y *F. cernua* (3).

### b) Microcápsulas

Las microcápsulas frescas de las diferentes especies de *Flourensia* se obtuvieron por homogeneización de las macrocápsulas con un homogeneizador Braun (Fig. 7). Una vez secas, se obtuvieron aglomerados (Fig. 8); en ambos casos no fue posible apreciar la morfología de las cápsulas a simple vista; por lo que para el caso de las microcápsulas frescas se hicieron observaciones con un microscopio óptico Zeiss y para las secas se utilizó un microscopio electrónico de barrido.



**Figura 7.** Microcápsulas frescas de (1) *F. cernua*, (2) *F. microphylla* y (3) *F. retinophylla*.

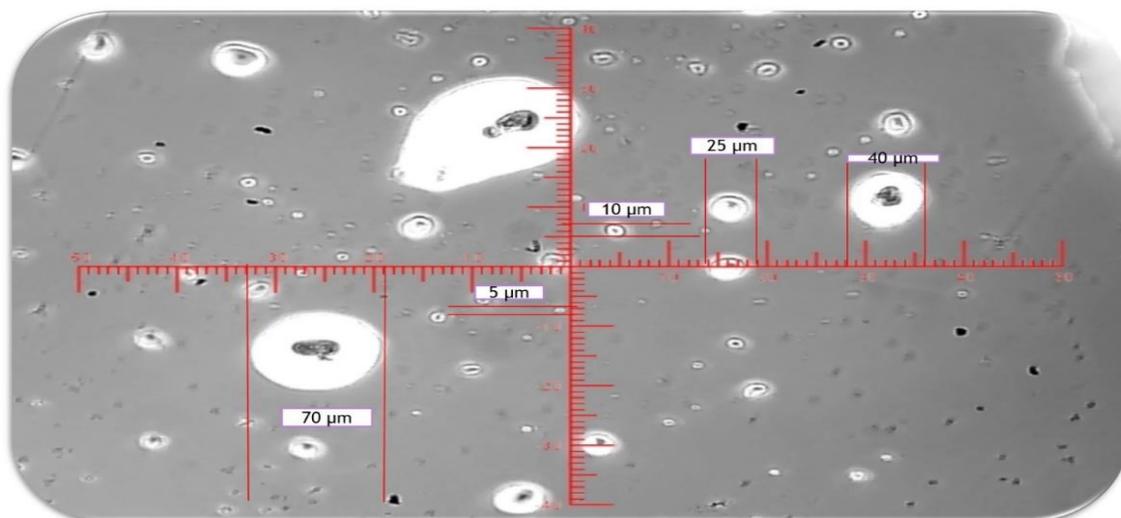


**Figura 8.** Microcápsulas secas de (1) *F. cernua*, (2) *F. microphylla* y (3) *F. retinophylla* (3).

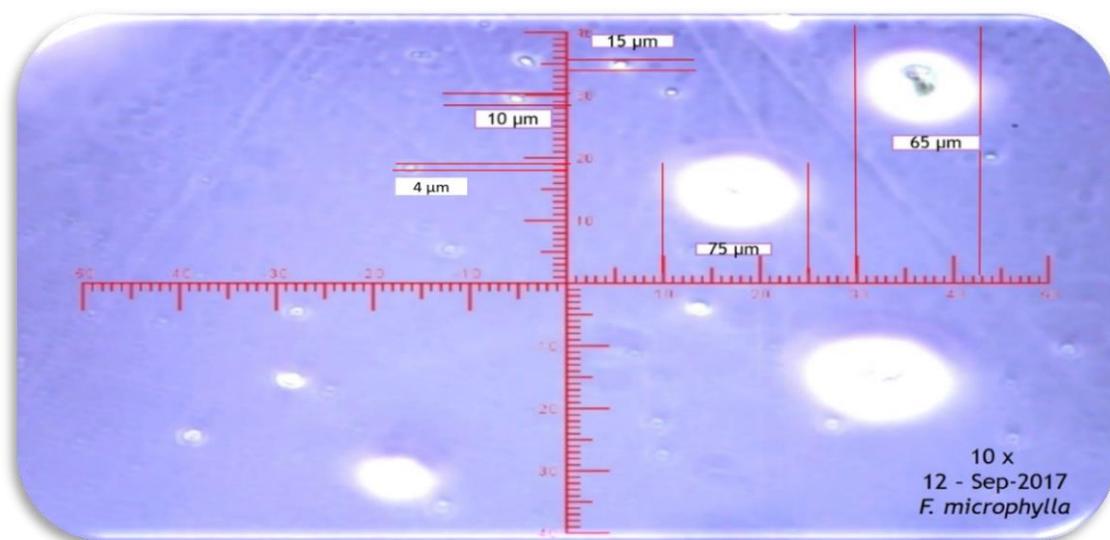
**a) Morfología de las cápsulas obtenidas por gelificación observadas mediante microscopio óptico Zeiss**

Las microcápsulas de las diferentes especies de *Flourensia* fueron observadas en un microscopio óptico Zeiss con un objetivo de 10x. Para las microcápsulas de *F. cernua* (Fig. 9) se observaron diámetros desde 5  $\mu\text{m}$  hasta 70  $\mu\text{m}$ , para *F. microphylla* (Fig. 10) se apreciaron diámetros desde 4  $\mu\text{m}$  hasta 75  $\mu\text{m}$  y para *F. retinophylla* (Fig. 11) se encontraron diámetros que van desde 3  $\mu\text{m}$  hasta 70  $\mu\text{m}$ . Estos resultados son congruentes con lo reportado por Likitdecharoj y

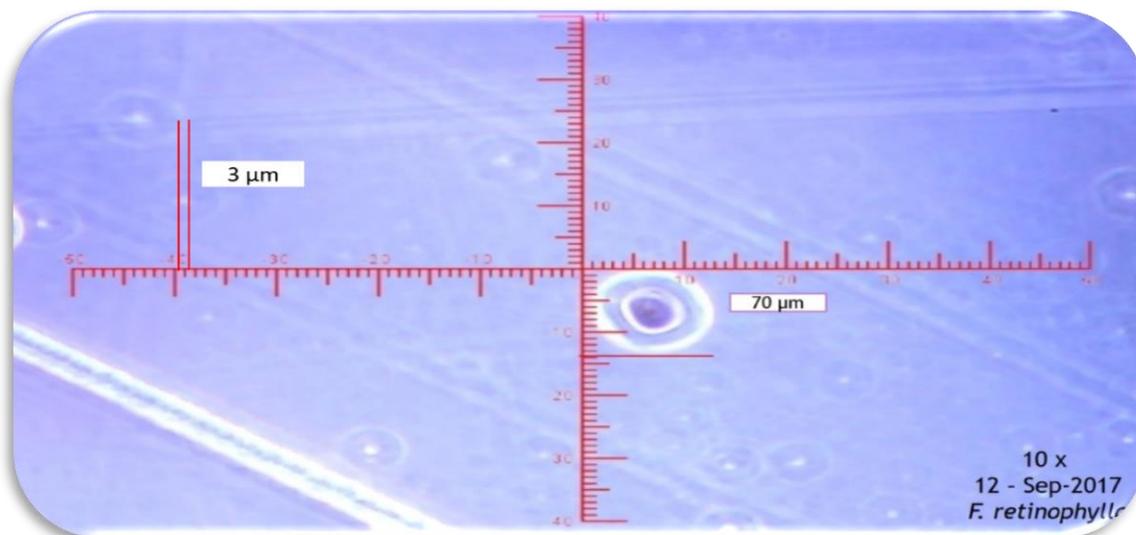
Ratanavaraporn (2018) quienes encapsularon té verde y observaron microcápsulas de diámetros desde 66  $\mu\text{m}$  hasta 73  $\mu\text{m}$ . Así mismo Ratanavaraporn y colaboradores (2014) reportaron diámetros mayores a los 200  $\mu\text{m}$ .



**Figura 9.** Microcápsulas de *F. cernua* observadas con un microscopio óptico Zeiss.



**Figura 10.** Microcápsulas de *F. microphylla* observadas con un microscopio óptico Zeiss.

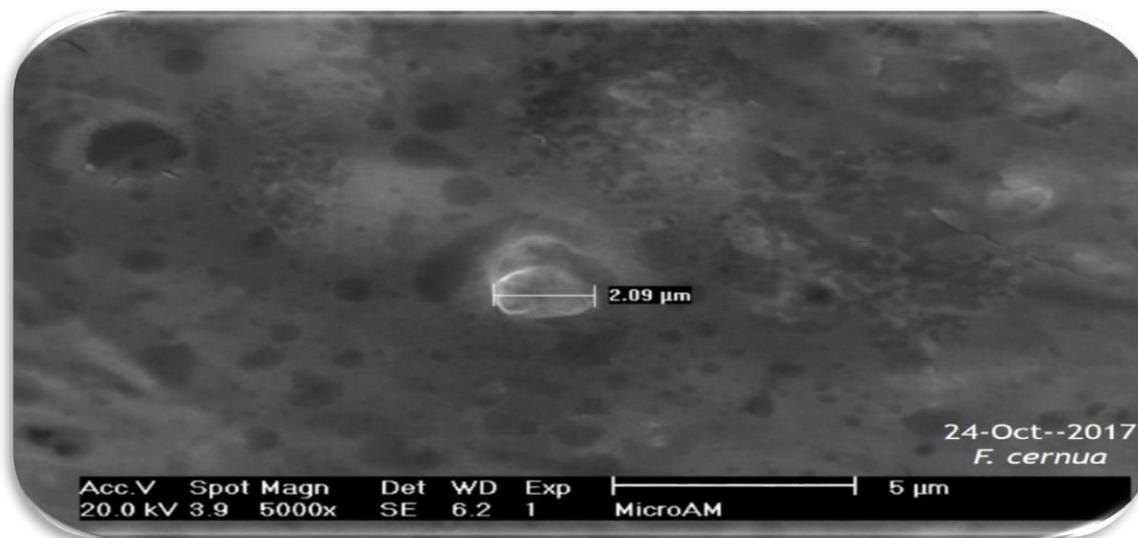


**Figura 11.** Microcápsulas de *F. retinophylla* observadas con un microscopio óptico Zeiss.

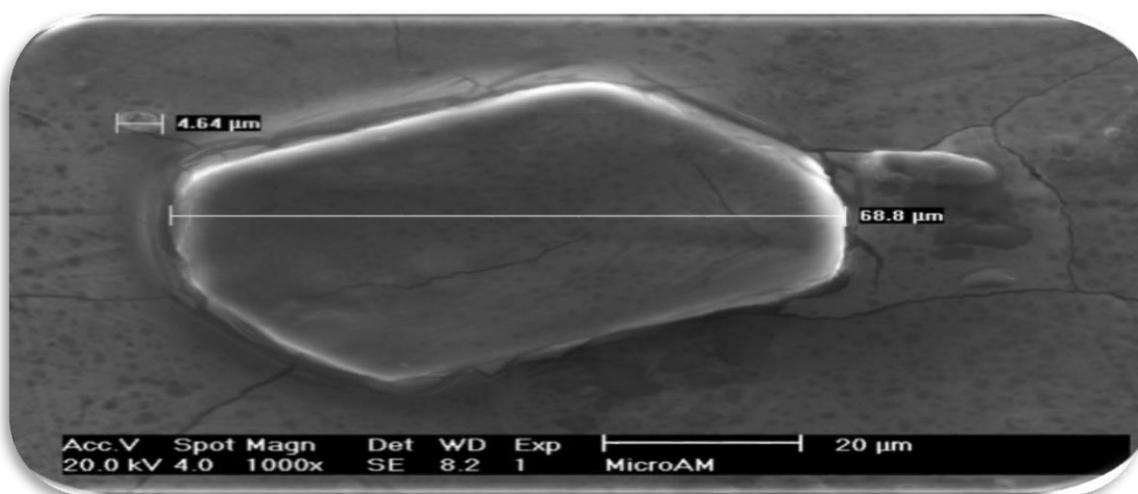
### **b) Morfología de las cápsulas obtenidas por gelificación observadas por un microscopio electrónico de barrido**

La morfología y el tamaño de los encapsulados también fue analizado por microscopía electrónica de barrido (SEM, de sus siglas en inglés). Se observó que las cápsulas en su mayoría presentan una forma esférica (Figs. 12, 13 y 14). La distribución de tamaños mostró dimensiones que van desde 2.1 a 3.2  $\mu\text{m}$  para cápsulas de *F. cernua* y *F. retinophylla*, respectivamente; mientras que las cápsulas de *F. microphylla* presentaron una mayor variabilidad en forma y tamaño con dimensiones entre 4.5 y 68.8  $\mu\text{m}$ . En general, los valores obtenidos permitieron clasificar las cápsulas formadas como microcápsulas, ya que están en el rango de esta categoría (1.0-5000  $\mu\text{m}$ ) (Hu et al., 2019). El tamaño mayor de las cápsulas de *F. microphylla* puede estar relacionado con su actividad antioxidante (Cuadro 3), probablemente debido a una mayor interacción entre los compuestos bioactivos del extracto y la estructura polimérica del alginato. Los resultados son comparables con los reportados por Likitdecharoj y Ratanavaraporn (2018) para el té verde encapsulado en gelatina, que tenía diámetros entre 66 y 73  $\mu\text{m}$ ; y Sanna et al. (2015) para resveratrol

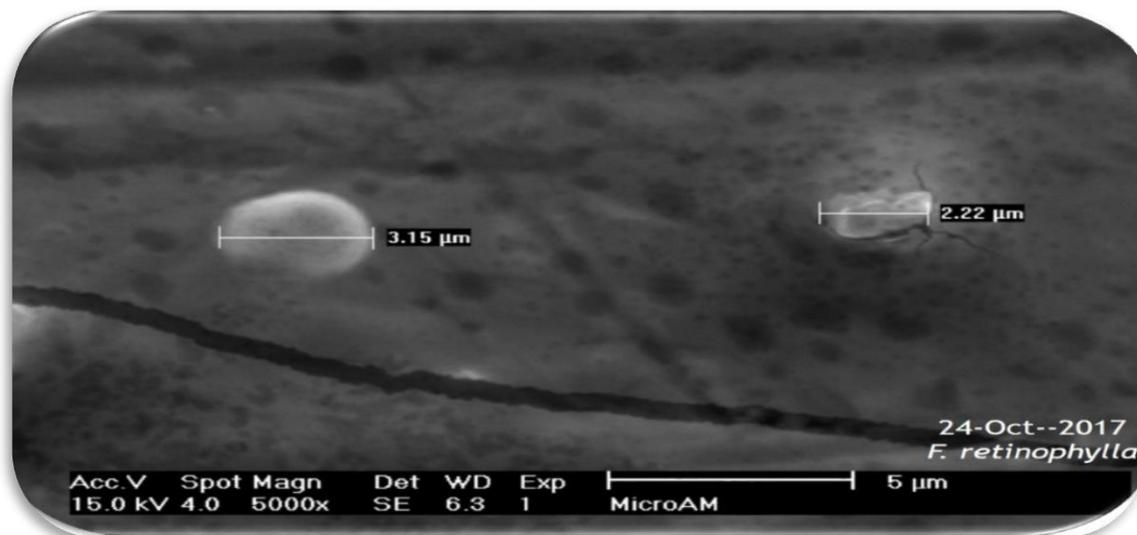
microencapsulado en una matriz polimérica de quitosán (D, L-ácido láctico-co-glicólico) con valores de 11-20  $\mu\text{m}$ .



**Figura 12.** Microcápsulas de *F. cernua* observadas con un microscopio electrónico de barrido.



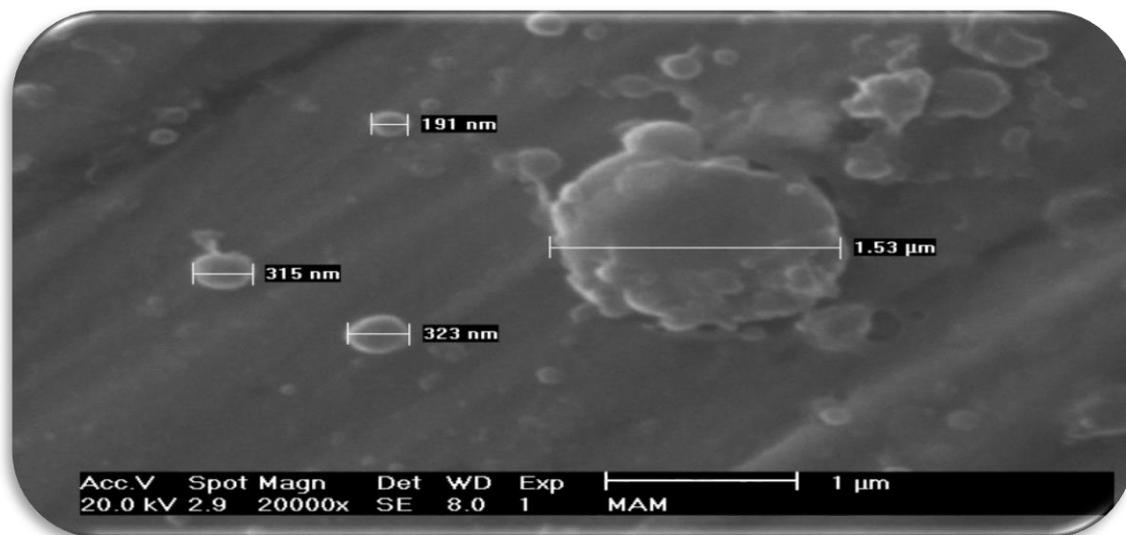
**Figura 13.** Microcápsulas de *F. microphylla* observadas con un microscopio electrónico de barrido.



**Figura 14.** Microcápsulas de *F. retinophylla* observadas con un microscopio óptico Zeiss.

### **c) Morfología de las nanocápsulas obtenidas por gelificación observadas con un microscopio electrónico de barrido**

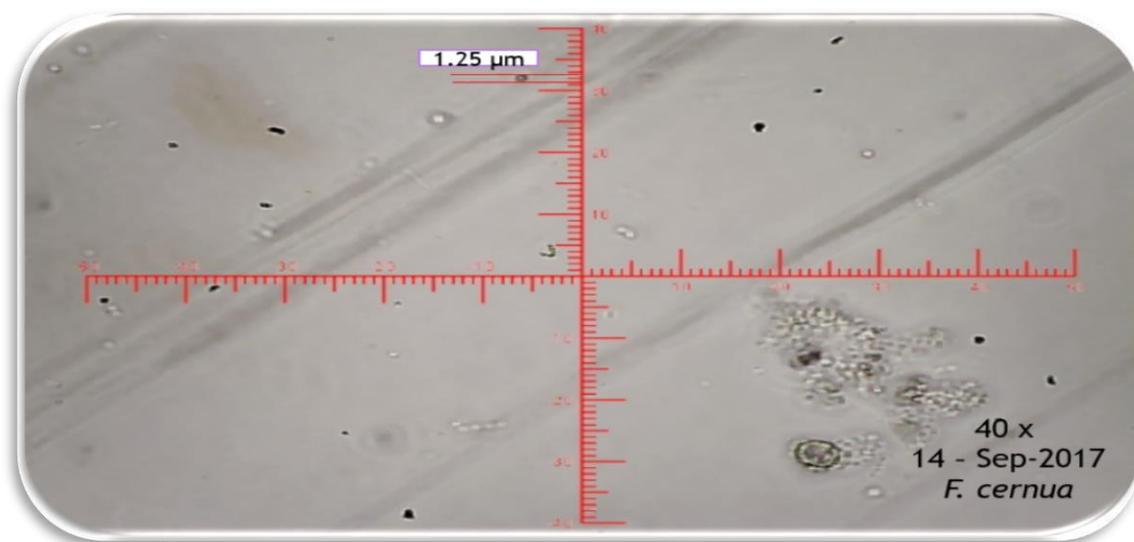
Del tratamiento por ultrasonido a que fueron sometidas las macrocápsulas, se obtuvieron partículas de dimensiones de orden nanométrico (Fig. 15). Los encapsulados de *F. microphylla* fueron observados mediante un microscopio electrónico de barrido con una escala de 1  $\mu\text{m}$ , en donde se lograron observar diámetros desde 191 nm hasta 323 nm. Estos resultados se pueden comparar con los reportados por Gortzi et al. (2008) en donde encapsularon extracto de *Myrtus communies*, obteniendo diámetros de 285 nm. Así mismo Konecsni et al. (2012) encapsularon quitosano-tripolifosfato obteniendo cápsulas de diámetros de entre 814 a 322 nm.



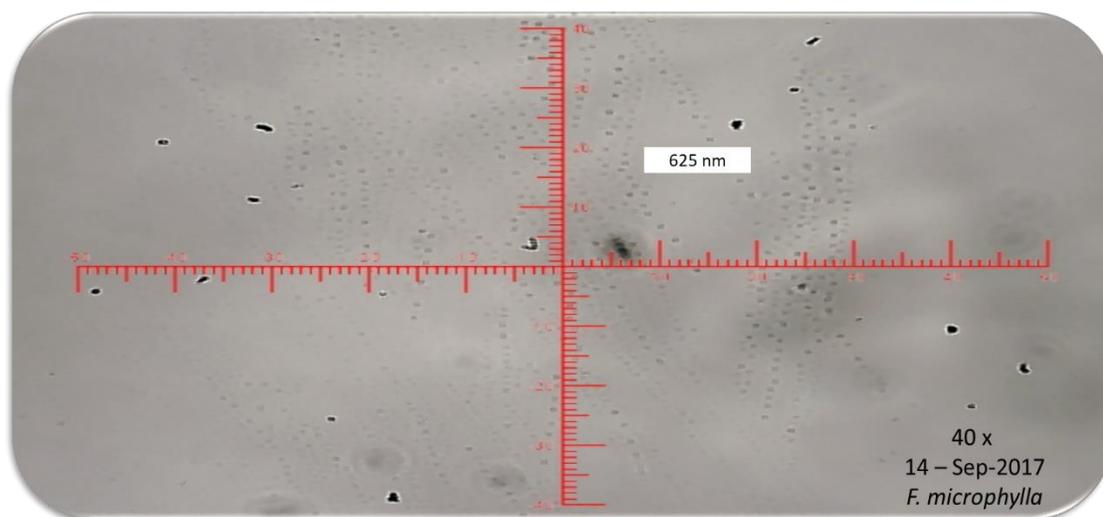
**Figura 15.** Nanocápsulas de *F. microphylla* observadas con un microscopio electrónico de barrido.

### **Encapsulado por emulsificación**

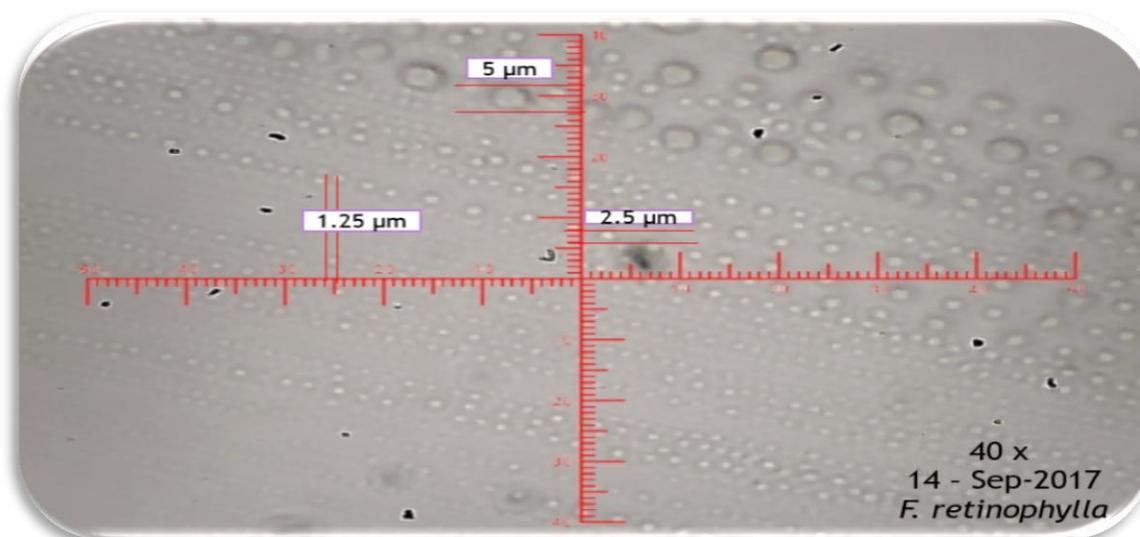
Las cápsulas obtenidas por el método de emulsificación, observadas con un microscopio óptico Zeiss, presentaron diámetros que van desde unos pocos micrómetros hasta nanómetros. Las nanocápsulas del extracto etanólico de la especie de *F. cernua* se pudieron observar diámetros desde 1.5  $\mu\text{m}$  (Fig. 16), para *F. microphylla* se obtuvieron diámetros desde 625 nm (Fig. 17) y para *F. retinophylla* diámetros que van desde 1.25  $\mu\text{m}$  hasta 5  $\mu\text{m}$  (Fig. 18).



**Figura 16.** Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de *F. cernua* observadas con un microscopio óptico Zeiss.



**Figura 17.** Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de *F. microphylla* observadas con un microscopio óptico Zeiss.



**Figura 18.** Cápsulas obtenidas por el método de emulsificación de extracto etanólico de *F. retinophylla* observadas con un microscopio óptico Zeiss.

### Viscosidad

La viscosidad de las soluciones de alginato depende de la longitud de las moléculas, cuando mayor sea la longitud de las cadenas, más alta será la viscosidad, al disolverse en agua, las moléculas se hidratan y la viscosidad aumenta. En una solución acida el alginato formará un gel (Lupo et al., 2012). Debido a que la viscosidad de cualquier solución puede variar con la composición química, es importante determinar si la adición de los extractos de *Flourensia* pueden afectar esta propiedad física en el gel, lo cual conduciría a una gelificación pobre e inestable. De las determinaciones de viscosidad al alginato puro y a la mezcla alginato extracto (Cuadro 5), es posible observar que la presencia del extracto no afecta la viscosidad de la solución, ya que los valores prácticamente no sufren cambio. Por lo que la gelificación da lugar a encapsulados de composición homogénea y estabilidad mecánica. Esto ha sido corroborado por las observaciones microscópicas de los encapsulados obtenidos.

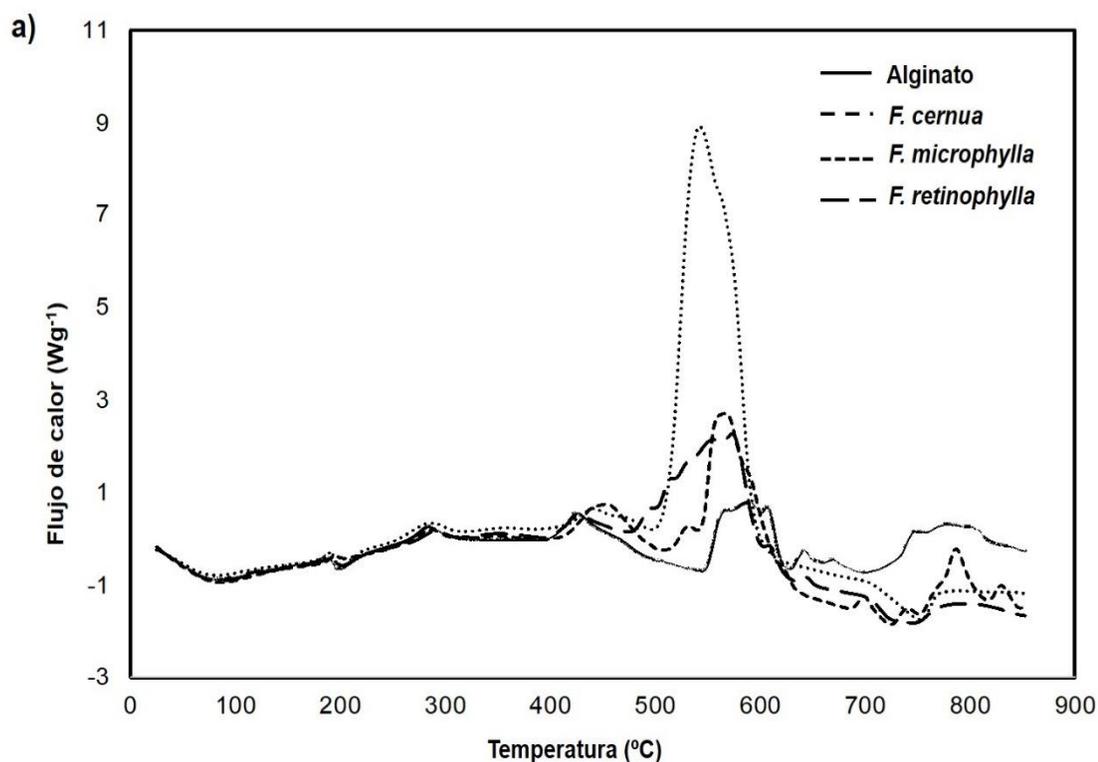
**Cuadro 5.** Viscosidad de alginato de sodio y mezcla de alginato con los extractos de las especies de *Flourensia*.

Muestra	Viscosidad
	(kg/ ms)
Alginato de sodio	0.034
Alginato con extracto de <i>F. cernua</i>	0.035
Alginato con extracto de <i>F. microphylla</i>	0.039
Alginato con extracto de <i>F. retinophylla</i>	0.038

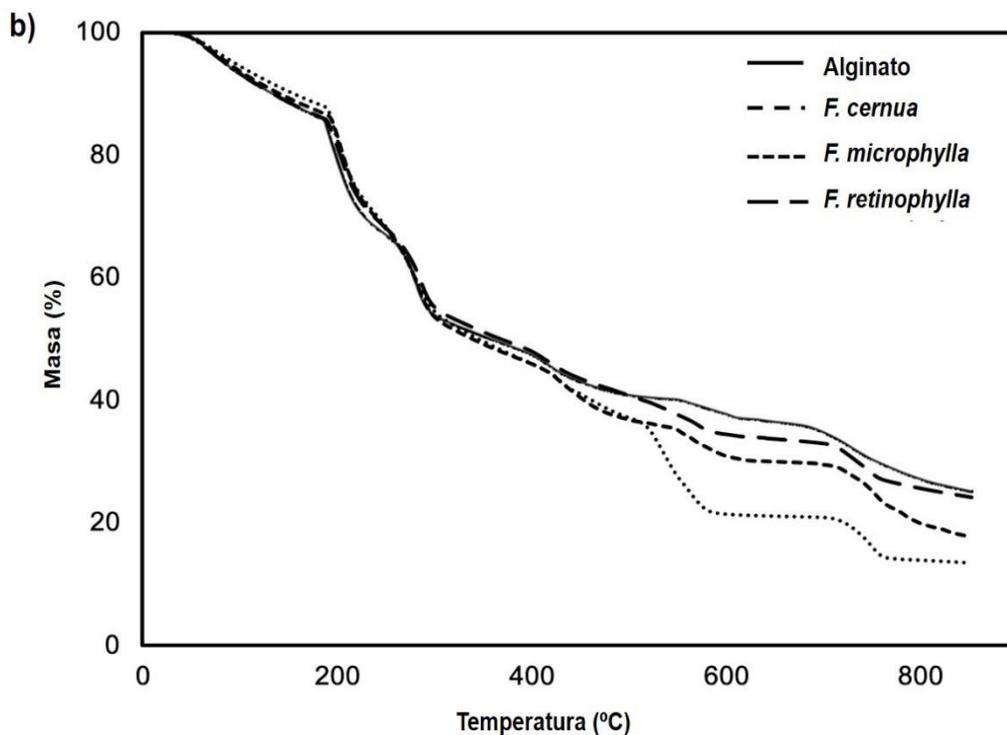
### **Análisis térmico**

La presencia de los extractos en microcápsulas de alginato se demuestra mediante el análisis térmico de las muestras. La Fig. 20 muestra el análisis termogravimétrico y DSC de las microcápsulas de alginato con y sin extractos de *Flourensia*. Las exploraciones por DSC de cápsulas de alginato puro (Fig. 20a) mostraron los picos característicos de alginato: un pico endotérmico a 70 °C correspondiente a la eliminación de agua de hidratación; dos picos exotérmicos a 180 y 280 °C y otra señal endotérmica a 200 °C, lo cual está en concordancia por lo reportado por otros autores (Anbinder et al., 2011; Deng et al., 2019). Además, se observan tres picos exotérmicos a 280, 425 y 600 °C en el termograma de las cápsulas de alginato. Como Anbinder et al. (2011) explicó, el cambio del pico endotérmico a 180 a 190 °C observado en microcápsulas con extracto, sería evidencia de la presencia de extracto en los encapsulados, garantizando la interacción entre los polifenoles del extracto y la estructura polimérica del alginato. Por otro lado, los extractos microencapsulados mostraron un aumento considerable en la intensidad del pico exotérmico centrado en 600 °C, que fue más marcado para microcápsulas de *F. microphylla* (Fig. 20a). Esto puede corroborar la presencia de compuestos específicos de los extractos de *Flourensia* dentro de las cápsulas, que varían según la fuente del extracto. La protección de la cápsula polimérica para cada extracto y la encapsulación

también se confirmó, ya que las microcápsulas de los extractos de *Flourensia* presentaron una menor pérdida de masa en comparación con la de las cápsulas de alginato puro (Fig. 20b) (da Rosa et al., 2014). Este efecto fue más evidente para las microcápsulas de *F. microphylla* (Fig. 20b), de acuerdo con la intensidad más fuerte a ~550°C observada en los extractos de DSC (Fig. 20a). Esto se corresponde con la mayor actividad antioxidante determinada para las microcápsulas de *F. microphylla* (Tabla 4) y con su mayor tamaño observado por microscopía (Fig. 13).



**Figura 19.** Grafica de Análisis Térmico



**Figura 20.** Análisis termogravimétrico DSC (a) y TGA (b) de las microcápsulas de alginato puro y extractos de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*.

### FTIR de cápsulas de alginato y de encapsulados de los extractos etanólicos de *Flourensia* spp.

El alginato de sodio y los extractos de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* presentan en su estructura anillos aromáticos, grupos alcohólicos, compuestos carbonilos y compuestos nitrogenados. Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos en el 2007 por Jasso de Rodríguez et al. (2017), quienes reportaron que en el extracto de *F. retinophylla*, se destacaba la presencia de las ondas OH, correspondientes al grupo hidroxilo, o bien al estiramiento N-H. Se puede observar que los extractos de las especies de *Flourensia* son estables químicamente al estar sometidas a la intemperie, lo que lleva a suponer la

estabilidad química que presentan los extractos etanólicos de las hojas de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*.

**Cuadro 6.** Señales de banda y las asignaciones de grupos funcionales de alginato de sodio y de los extractos de *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla* por análisis de FTIR, en comparación con espectros FTIR de alginato de sodio (Flores-Garay et al., 2016).

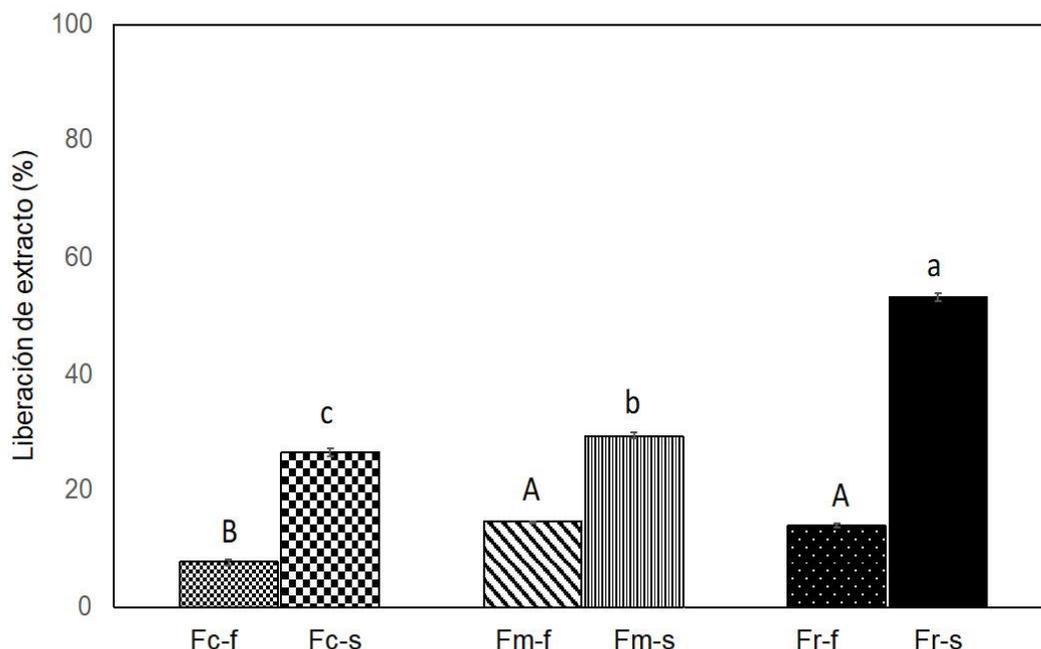
Número de onda					Asignación
(cm <sup>-1</sup> )					
Alginato	<i>F. microphylla</i>	<i>F. retinophylla</i>	<i>F. cernua</i>	Alginato: Flores-Garay, 2016	
3260.03	3269.49	3263.95	3269.55	3300	O-H
					C=C, C=O
1594.36	1595.56	1594.28	1595.51	1594	de una amida
1415.28	1416.41	1415.82	1415.67	1410	C-O-H, C-N
1296.97	1296.95	1296.27	1296.74	-	C-O-H
1082.57	1082.71	1083.13	1083.29	1085	C-O
1030.76	1030.88	1030.53	1031.03	1022	C-O

Se presenta el espectro FTIR de alginato según Flores-Garay et al., 2016.

### **Evaluación de la liberación de extracto de los encapsulados en un modelo de jugos gástricos *In vitro***

El perfil de liberación de extracto (%) de las microcápsulas en fluidos gástricos se presenta en la Fig. 21. Durante el ensayo (2 h, pH 1.2), se observó una liberación de extracto de las microcápsulas secas entre 26.5 y 53.3%, mientras que para microcápsulas frescas el porcentaje de liberación de extracto varió entre 7.7 y 14.5%. En primer lugar, estos datos no son alentadores, ya que es deseable que la liberación en el estómago de un ingrediente activo sea inferior al 10%. Esto

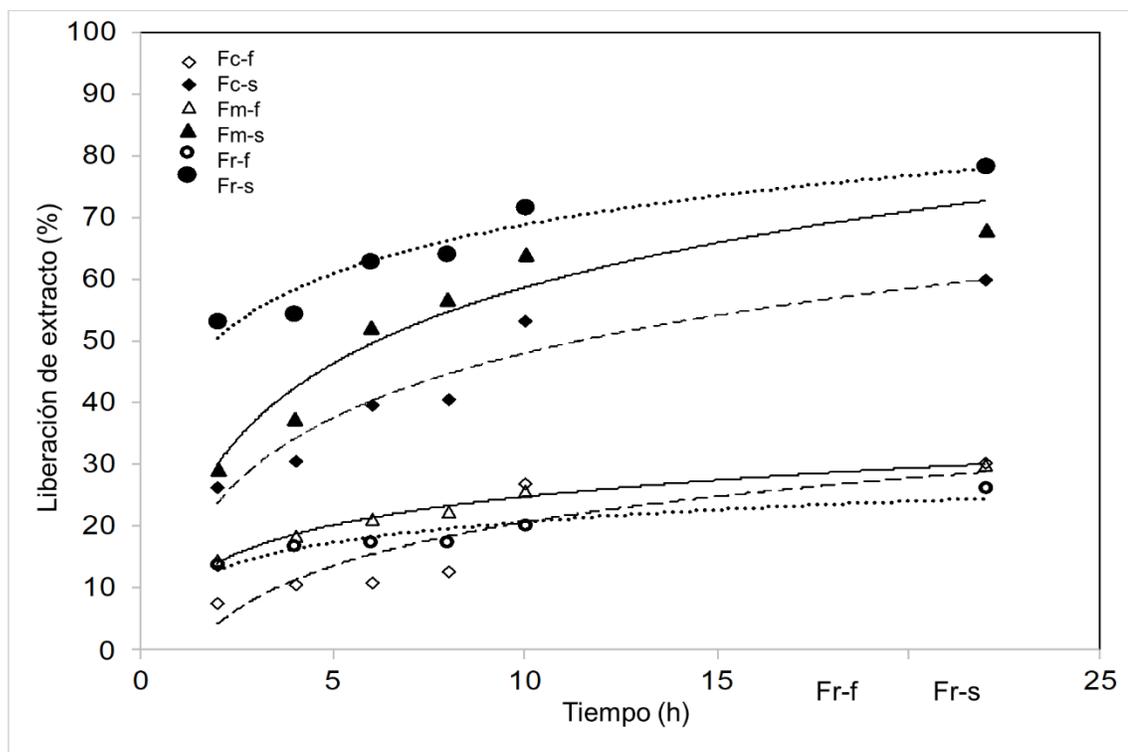
se debe a que para que un medicamento sea efectivo, debe ser absorbido en el tracto intestinal, por lo que lo ideal es que la liberación se de lo más posible en el intestino y no en el estómago. Sin embargo, hay informes de liberación de extractos naturales de otras matrices que son incluso superiores a los obtenidos en este trabajo. Gorbunova et al. (2018) informaron una liberación alta (entre 29 y 36%) de betacianinas, betaxantinas y compuestos fenólicos a partir de extractos encapsulados de alginato en medio gástrico (pH 1.2). Asimismo, Moreno et al. (2018) también informaron una liberación superior al 20% de la uva encapsulada por secado por pulverización. En este sentido, es interesante realizar estudios adicionales en los que se utiliza algún tipo de recubrimiento de los encapsulados para permitir la liberación en el sitio deseado (Colilla et al., 2010). Anbinder et al. (2011) demostraron que el recubrimiento de quitosán de las cápsulas de alginato previene la liberación de compuestos de polifenoles a partir de extractos de yerba mate en los fluidos gástricos, promoviendo la liberación en los fluidos intestinales. Además, parece ser que las microcápsulas de alginato aumentan la solubilidad de los extractos de especies de *Flourensia* en soluciones acuosas y cuando se dispersa tiene un área de contacto mayor con el fluido, lo que aumenta el porcentaje de liberación del extracto en las cápsulas secas (Zheng et al., 2011).



**Figura 21.** Extracto de liberación en fluidos gástricos (pH 1.2) de microcápsulas frescas (-f) y secas (-s) de *F. cernua* (Fc), *F. microphylla* (Fm) y *F. retinophylla* (Fr). Los valores son la media y las barras de error muestran la desviación estándar. Las letras mayúsculas se utilizan para comparar medias de microcápsulas frescas; Las letras minúsculas se utilizan para comparar medias de microcápsulas secas. Los medios con la misma letra mayúscula y minúscula no difirieron según la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

### Evaluación de encapsulados en un modelo de jugos intestinales

Con respecto a la liberación de extractos de *Flourensia* a partir de microcápsulas frescas en el fluido intestinal (pH 7), los valores alcanzaron hasta el 30% de liberación a las 22 h; mientras que para las microcápsulas secas, la liberación fue significativamente mayor: 58, 64 y 80% para *F. cernua*, *F. microphylla* y *F. retinophylla*, respectivamente (Fig. 22). Además, se puede observar que la liberación es constante a lo largo del intervalo de tiempo estudiado, lo que puede estar relacionado con un efecto de liberación prolongada y gradual. Se ha informado que para algunos materiales la liberación de fármacos antiinflamatorios, como el zoleodrante, se considera lenta, ya que después de 4 días se logra una liberación de solo el 45% (Vallet-Regí et al., 2004).



**Figura 22.** Extracto de liberación en fluidos intestinales (pH 7) de microcápsulas frescas (-f) y secas (-s) de *F. cernua* (Fc), *F. microphylla* (Fm) y *F. retinophylla* (Fr).

Se puede observar que las microcápsulas secas de *F. retinophylla* presentaron el mejor comportamiento en la liberación del extracto (Fig. 22). Sin embargo, es necesario considerar que la liberación en fluidos gástricos fue elevada (hasta 53%); así, solo alrededor del 25% se libera en los fluidos intestinales. Mientras que las microcápsulas secas de *F. microphylla* liberaron hasta el 38% del extracto en el fluido intestinal. En este sentido, está claro que la encapsulación protege el extracto permitiendo su liberación controlada en los fluidos intestinales.

Por otro lado, para determinar el orden de reacción de la cinética de liberación, se realizaron los cálculos de las constantes de velocidad de liberación de los extractos encapsulados (Cuadro 7). Este enfoque es importante ya que podría predecir el comportamiento de liberación de un extracto o compuesto activo; y ayuda a desarrollar estrategias para mejorar la liberación (Safdar et al., 2019). Excepto en las microcápsulas frescas de *F. microphylla* (Fm-f), todos los extractos encapsulados se ajustaron con un modelo de orden cero ( $K_0$ ), ya que se obtuvo un ajuste de correlación mayor que 0.9. De lo contrario, para el modelo

de primer orden ( $K_1$ ) se encontraron correlaciones menores a 0.9. Esto significa que la tasa de liberación de *Flourensia* spp. los extractos encapsulados en alginato son constantes e independientes de la concentración (Safdar et al., 2019). Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Li et al. (2007), quienes encontraron que la liberación de extractos de ajo, microencapsulados en etilcelulosa / acetato ftalato de celulosa, sigue una cinética de orden cero entre 60 y 120 minutos.

Otro modelo cinético reportado para entender la liberación de compuestos activos fue propuesto por Higuchi (1963), que describe un proceso empírico para la liberación de fármacos y se basa en la Ley Fick. El modelo de Higuchi ( $K_H$ ) considera que la liberación de un fármaco depende del tiempo, por lo tanto, es posible que se libere un principio activo siguiendo un modelo de orden cero al comienzo de la ingestión y luego se cambie a un comportamiento diferente (Safdar et al., 2019). Así, en el Cuadro 7 se puede observar que las microcápsulas de los extractos de *F. cernua* y *F. retinophylla* (frescas y secas) siguieron un modelo de orden cero y que también se ajusta un modelo de Higuchi. El comportamiento de *F. microphylla* es diferente, ya que la liberación del extracto de microcápsulas frescas se ajusta mejor al modelo de Higuchi, mientras que la liberación de las cápsulas secas sigue un modelo de orden cero. Esto puede estar asociado al mayor tamaño de partícula observado en las microcápsulas (Fig. 13), y también a la mayor actividad antioxidante que se observó para este extracto (Cuadro 4).

**Cuadro 7.** Parámetros cinéticos de la liberación de extracto de *Flourensia* spp.

Muestra	Orden cero		Primer orden		Higuchi	
	$k$ ( $h^{-1}$ )	$r^2$	$k$ ( $h^{-1}$ )	$r^2$	$K$ ( $h^{1/2}$ )	$r^2$
<i>Fc-f</i>	1.13	0.938	0.064	0.9079	7.04	0.9379
<i>Fm-f</i>	0.70	0.750	0.031	0.6597	4.61	0.9816
<i>Fr-f</i>	0.57	0.951	0.028	0.8851	3.63	0.9643
<i>Fc-d</i>	1.58	0.921	0.037	0.8391	10.27	0.9843
<i>Fm-d</i>	1.68	0.972	0.034	0.9442	11.50	0.8633
<i>Fr-d</i>	1.23	0.988	0.019	0.9822	7.96	0.9676

## CONCLUSIONES

- Se obtuvieron microcápsulas de tres especies de *Flourensia* spp. Por el método de gelificación con alginato, utilizando una metodología simple y reproducible. El encapsulado del extracto se demostró por la presencia de un pico exotérmico en el DSC a aproximadamente 600 ° C; mientras que se confirmó que las cápsulas son de tamaño micrométrico de rango entre 2.1-68.8 µm.
- La dimensión del tamaño varió según la fuente del extracto. La mayoría de las microcápsulas presentaban una forma esférica, excepto las de *F. microphylla*; sin embargo, éstas mostraron el comportamiento más sobresaliente presentando una fuerte actividad antioxidante, incluso en su forma encapsulada.
- Las microcápsulas de *F. microphylla* mostraron la mejor liberación, ya que alrededor del 35% del extracto se puede beneficiar, siguiendo un modelo de Higuchi.
- En general los extractos encapsulados presentaron menor concentración de contenido de fenoles que los extractos sin encapsular.
- Los extractos encapsulados en seco de las tres especies de *Flourensia*, presentaron un mayor porcentaje de liberación de los agentes bioactivos en los jugos intestinales, que los extractos encapsulados en fresco.
- El extracto encapsulado de *F. microphylla* en seco, fue el mejor de los tres extractos encapsulados de *Flourensia* en seco, porque liberó menor porcentaje de agentes bioactivos en jugos gástricos y mayor porcentaje en los jugos intestinales.
- Los resultados obtenidos indican que los compuestos fenólicos con capacidad antioxidante de los encapsulados de *F. microphylla* en seco, podrían estar biodisponibles después de la digestión y podrían contribuir a la protección de los humanos contra algunas enfermedades.
- En general, se demostró el efecto de protección que la microcápsula proporciona a los extractos, obteniendo mejores resultados de liberación en los fluidos intestinales con las microcápsulas secas que para las

microcápsulas frescas. Por lo tanto, este es un buen vehículo de protección y suministro de compuestos funcionales presentes en *Flourensia* spp. Este es el primer informe científico de microencapsulación de especies de *Flourensia* y su liberación controlada bajo digestión GI in vitro.

## REFERENCIAS

- Aguirre-Garrido, J. F., Montiel-Lugo, D., Hernández-Rodríguez, C., Torres-Cortes, G., Millán, V., Toro, N., Ramírez-Saad, H. C., 2012. Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 101(4), 891–904. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9705-3>
- Aguirre Calvo, P., Santagapita, T., 2016. Physicochemical Characterization of Alginate Beads Containing Sugars and Biopolymers. *Journal of Quality and Reliability Engineering*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9184039>
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., Garcia-Carranca, A., 2011. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3), 945–972. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.055>
- Anbinder, P. S., Deladino, L., Navarro, A. S., Amalvy, J. I., Martino, M. N., 2011. Yerba Mate Extract Encapsulation with Alginate and Chitosan Systems: Interactions between Active Compound Encapsulation Polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 01(04), 80–87. <https://doi.org/10.4236/jeas.2011.14011>
- Bagchi, B., Kar, S., Dey, S. K., Bhandary, S., Roy, D., Mukhopadhyay, T. K., Nandy, P., 2013. In situ synthesis and antibacterial activity of copper nanoparticle loaded natural montmorillonite clay based on contact inhibition and ion release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.03.019>
- Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., Mussatto, S. I., 2015. Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. *Carbohydrate Polymers*, 127, 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.047>
- Barba, A. A., Matteo, d' A., Chirico, S., Lamberti, G., Titomanlio, G., 2008. A general code to predict the drug release kinetics from different shaped matrices, 6, 359–368. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.10.006>
- Belščak-Cvitanović, A., Stojanović, R., Manojlović, V., Komes, D., Cindrić, I. J., Nedović, V., Bugarski, B., 2011. Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate-chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, 44(4), 1094–1101. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.030>

- Benzie, I. F., Strain, J. J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Methods Enzymol*, 299, 15–36.
- Borgogna, M., Bellich, B., Zorzin, L., Lapasin, R., Cesàro, A., 2010. Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food Chemistry*, 122(2), 416–423. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.043>
- Brownlie, K., 2007. Marketing Perspective of Encapsulation Technologies in Food Applications. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. Iowa, 213–234. <https://doi.org/10.1002/9780470277881>
- Calero, J., Sánchez, Y. F., Tórrez, R., Hernann, E., López, K., 2008. Elaboración y Caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de Diclofenac obtenidas por Gelificación Iónica. UNAN-León, Editorial Universitaria., 27–30.
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A., Aguilar, C.N., 2010. In vitro antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ind. Crops Prod.* 32, 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.013>
- Cerqueira, M.A., Pinheiro, A.C., Silva, H.D., Ramos, P.E., Azevedo, M.A., Flores-López, M.L., Rivera, M.C., Bourbon, A.I., Ramos, Ó.L., Vicente, A.A., 2014. Design of Bio-nanosystems for Oral Delivery of Functional Compounds. *Food Eng. Rev.* 6, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9074-3>
- Champagne, C. P., Fustier, P., 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.03.001>
- Chan, L. W., Jin, Y. and Heng, P. W. S., 2002. Cross-linking mechanisms of calcium and zinc in production of alginate microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 242(1–2), 255–258. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(02\)00169-2](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00169-2)
- Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S., Sumnu, G., 2012. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *Eur. Food Res. Technol.*, 235, 587–596. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1786-8>
- Colilla, M., Manzano, M., Izquierdo-Barba, I., Vallet-Reg, M., Boissière, C., Sanchez, C., 2010. Advanced drug delivery vectors with tailored surface properties made of mesoporous binary oxides submicronic spheres. *Chem. Mater.* 22, 1821–1830. <https://doi.org/10.1021/cm9033484>

- da Rosa, C.G., Borges, C.D., Zambiasi, R.C., Rutz, J.K., da Luz, S.R., Krumreich, F.D., Benvenuti, E.V., Nunes, M.R., 2014. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.042>
- Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., Lundin, L., 2009. Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9), 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.05.002>
- De Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. and Sikkema, J., 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Journal of ChemTech Research*, 8(11), 587–598. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
- Deladino, L., Anbinder, P. S., Navarro, A. S., Martino, M. N., 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.030>
- Delbón, N., Cosa, M. T. y Bernardello, G., 2012. Exomorfología y anatomía de órganos vegetativos aéreos en especies de *Flourensia* DC. (Asteraceae) con importancia fitoquímica. *Acta Botanica Brasilica*, 26(1), 2–10. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100002>
- Deng, Z., Wang, F., Zhou, B., Li, J., Li, B., Liang, H., 2019. Immobilization of pectinases into calcium alginate microspheres for fruit juice application. *Food Hydrocoll.* 89, 691–699. <https://doi.org/S0268005X18310452>
- Desai, K. G. H. and Park, H. J., 2005. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients (Vol. 23). *Drying Technology*. <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>
- Dillon, M. O., 1984. Taxonomy of the genus *Flourensia* (Asteraceae). *Fieldiana*.
- Dillon, M. O. and Mabry, T. J., 1977. Flavonoid aglycones from *Flourensia*. *Phytochemistry*, 16, 1318–1319.
- Donati, I. and Paoletti, S., 2009. Material Properties of Alginates. Retrieved from <http://dlib.scu.ac.ir/bitstream/Ebook/84293/2/9783540926788.pdf>
- Draget, K. I., 2009. Alginates. *Trends in Food Science & Technology* (Vol. 7). [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)81250-7](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81250-7)
- Fabra, M.J., Flores-López, M.L., Cerqueira, M.A., Jasso de Rodríguez, D., Lagaron, J.M., Vicente, A.A., 2016. Layer-by-Layer technique to developing functional nanolaminate films with antifungal activity. *Food Bioprocess Technol.* 9, 471–480. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1646-1>

- Fang, Z. and Bhandari, B., 2010. Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(10), 510–523. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.08.003>
- Fathi, M., Mozafari, M. R. and Mohebbi, M., 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 23(1), 13–27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., Vissotto, F. Z. and de Aguirre, J. M., 2012. Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 1237–1245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02964.x>
- Gbassi, G. K. and Vandamme, T., 2012. Probiotic encapsulation technology: From microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, 4(1), 149–163. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics4010149>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. and Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Gorbunova, N., Bannikova, A., Evteev, A., Evdokimov, I., Kasapis, S., 2018. Alginate-based encapsulation of extracts from beta Vulgaris cv. beet greens: Stability and controlled release under simulated gastrointestinal conditions. *Lwt* 93, 442–449. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.075>
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I. and Tsaknis, J., 2008. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European Food Research and Technology*, 226(3), 583–590. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0592-1>
- Gouin, S., 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Tech.* 15 (7–8), 330–347.
- Grande, A. H., 2007. Nanotecnología y Nanopartículas Magnéticas: La Física actual en Lucha Contra La Enfermedad. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp)*, 101(2), 321–327. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.14508/sdp.2014.6.12.129-140>
- Gupta, S., Khan, S., Muzafar, M., Kushwaha, M., Yadav, A.K., Gupta, A.P., 2016. Encapsulation entrapping essential oil/flavors/aromas in food. In “Encapsulations. Nanotechnology in the Agri-Food Industry, Volume 2” Ed. Grumezescu, A.M. (Ed.) Elsevier, 229-268. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804307-3.00006-5>

- Higuchi, T., 1963. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, 1145–1149. <https://doi.org/10.1002/jps.2600521210>
- Hu, Y., Kou, G., Chen, Q., Li, Y., Zhou, Z., 2019. Protection and delivery of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) peel extracts by encapsulation of whey protein concentrate nanoparticles. *Lwt* 99, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.044>
- Ishikawa, A. and Hosgün, H. L., 2007. Kinetics of synthesis of isobutyl propionate over amberlyst-15. *Turkish Journal of Chemistry*, 31(5), 493–499. <https://doi.org/10.1002/kin>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. and Bhandari, B., 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jasso de Rodríguez, D., Hernandez-Castillo, F.D., Solis-Gaona, S., Rodríguez-García, R. and Rodríguez-Jasso, R. M., 2012. *Flourensia cernua* DC : A Plant from Mexican Semiarid Regions with a Broad Spectrum of Action for Disease Control.
- Jasso de Rodríguez, D., Carrillo-Lomelí, D. A., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M. L. V. and Villarreal-Quintanilla, J. A., 2017a. Antioxidant, anti-inflammatory and apoptotic effects of *Flourensia microphylla* on HT-29 colon cancer cells. *Industrial Crops and Products*, 107, 472–481. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.034>
- Jasso de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, D., Angulo-Sánchez, J. L., Rodríguez-García, R., Villarreal Quintanilla, J. A. and Lira-Saldivar, R. H., 2007. Antifungal activity in vitro of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>
- Jasso de Rodríguez, D., Salas-Méndez, E. de J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A. and Carrillo-Lomelí, D. A., 2017b. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. *Industrial Crops and Products*, 107(January), 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.054>
- Keil, D. J., Benson, L., Darrow, R. A., 1982. Trees and Shrubs of the Southwestern Deserts, 109(2), 229–230.
- Konecsni, K., Low, N. H., Nickerson, M. T., 2012. Chitosan – tripolyphosphate submicron particles as the carrier of entrapped rutin. *Food Chemistry*, 134(4),

1775–1779. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.070>

- Lamas MC, Bregni C, Frías M, Velázquez R., 1998. Hydrogel microspheres for flutamide obtained by múltiple emulsions. *S.T.P. Pharma Science*. 8(6), 375–378.
- Lechuga, L. M., 2010. Nanomedicina: ampliación de la nanotecnología en la salud. *Biología Aplicada a La Salud Humana*, 100–102. Retrieved from [http://digital.csic.es/bitstream/10261/44635/1/7\\_Nanomedicina.pdf%0Ahttp://digital.csic.es/handle/10261/44635](http://digital.csic.es/bitstream/10261/44635/1/7_Nanomedicina.pdf%0Ahttp://digital.csic.es/handle/10261/44635)
- León, M. ángel De, Sáenz, A., Jasso-Cantu, D., Rodríguez, R., Pandey, A. and Aguilar, C. N., 2013. Fermented *Flourensia cernua* extracts and their in vitro assay against *penicillium expansum* and *fusarium oxysporum*. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 233–239.
- Li, H. Bin, Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.* 102, 771–776. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.022>
- Li, Y., Xu, S.-Y., Sun, D.-W., 2007. Preparation of garlic powder with high allicin content by using combined microwave-vacuum and vacuum drying as well as microencapsulation. *J. Food Eng.* 83, 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.057>
- Likitdecharoj, P. and Ratanavaraporn, J., 2018. Comparative study in physico-chemical properties of gelatin derivatives and their microspheres as carriers for controlled release of green tea's extract. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47 (August), 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.08.005>
- López-Rubalcava, C. and Estrada-Camarena, E., 2016. Mexican medicinal plants with anxiolytic or antidepressant activity: Focus on preclinical research. *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 377–391. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.053>
- Luo, J., Chuang, T., Cheung, J., Quan, J., Tsai, J., Sullivan, C. and Reaven, G. M., 1998. Masoprocol (nordihydroguaiaretic acid): A new antihyperglycemic agent isolated from the creosote bush (*Larrea tridentata*). *European Journal of Pharmacology*, 346(1), 77–79. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00139-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00139-3)
- Lupo Pasin, B. L., GonzálezAzón, C., Maestro Garriga, A., 2012. Revisión Microencapsulación con alginato en alimentos. *Técnicas y aplicaciones Microencapsulation in alginate for food . Technologies and applications*, 3(1), 130–151.

- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Mastromatteo, M., Mastromatteo, M., Conte, A. and Del Nobile, M. A., 2010. Advances in controlled release devices for food packaging applications. *Trends in Food Science and Technology*, 21(12), 591–598. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.07.010>
- Mata, R., Bye, R., Linares, E., Macías, M., Rivero-Cruz, I., Pérez, O. and Timmermann, B. N., 2003. Phytotoxic compounds from *Flourensia cernua*. *Phytochemistry*, 64(1), 285–291. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00217-6)
- McClements, D.J., Xiao, H., 2017. Designing food structure and composition to enhance nutraceutical bioactivity to support cancer inhibition. *Seminars in Cancer Biology*, 46, 215–226. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.06.003>
- Mendez, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales-Adame, D., Castillo, F., Hernández-Castillo, F.D., Aguilar, C.N., 2012. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Ind. Crops Prod.* 37, 445–450. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.07.017>
- Molina-Salinas, G.M., Ramos-Guerra, M.C., Vargas-Villarreal, J., Mata-Cárdenas, B.D., Becerril-Montes, P., Said-Fernández, S., 2006. Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch. Med. Res.* 37, 45–49. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.04.010>
- Moreno, T., Cocero, M.J., Rodríguez-Rojo, S., 2018. Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. *Food Bioprod. Process.* 112, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.08.011>
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Carlos Parajó, J., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145–171. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
- Munin, A. and Edwards-Lévy, F., 2011. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics* (Vol. 3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3040793>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B., 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>

- Nejati, R., Gheisari, H., Hosseinzadeh, S., Amin, H., 2011. Viability of encapsulated *Bifidobacterium lactis* (BB-12) in synbiotic UF cheese and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 6(3–4), 197–204. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12312>
- Newman, D. J., Cragg, G. M. and Snader, K. M., 2003. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981 - 2002, 1022–1037.
- Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias de Alencar, S., Thomazini, M., de Camargo Balieiro, J. C. and Contreras Castillo, C. J., 2011. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.09.010>
- Onwulata, C. I., 2011. Encapsulation of New Active Ingredients. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 183–202. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101140>
- Onwulata, C. I., 2012. Microencapsulation and functional bioactive foods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 510–532. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00680.x>
- Ourtzinos, I. O. M., Alta, F. O. S., Annakopoulou, K. O. Y., Hiou, A. N. C., and Arathanos, V. A. T. K., 2007. Encapsulation of Olive Leaf Extract in  $\beta$ -Cyclodextrin.pdf, 8088–8094.
- Parra, A., 2010. Revisión : Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín.*, 63(2), 5669–5684.
- Pedroza, R., 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. *Memorias Del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 10. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.6.7047>
- Pimentel-González, D. J., Campos-Montiel, R. G., Lobato-Calleros, C., Pedroza-Islas, R. and Vernon-Carter, E. J., 2009. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 42(2), 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.002>
- Pinheiro, A.C., Gonçalves, R.F., Madalena, D.A., Vicente, A.A., 2017. Towards the understanding of the behavior of bio-based nanostructures during in vitro digestion. *Curr. Opin. Food Sci.* 15, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.06.005>

- Quintanilla-Carvajal, M.X., Camacho-Díaz, B.H., Meraz-Torres, L.S., Chanona-Pérez, J.J., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Aparicio, A., Gutiérrez-López, G.F., 2010. Nanoencapsulation: a new trend in food engineering processing. *Food Eng. Rev.* 2 (1), 39–50.
- Ratanavaraporn, J., Kanokpanont, S. and Damrongsakkul, S., 2014. The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 25(2), 401–410. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-5082-3>
- Reese, R. W. D., 2015. *American Bryological and Lichenological Society Review*, 74(1), 69–70.
- Reineccius, G. A., 1995. Liposomes for Controlled Release in the Food Industry, 113–131. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0590.ch011>
- Rios, M. Y., 2015. Chemistry and Biology of the Genus *Flourensia* (Asteraceae). *Chemistry and Biodiversity*, 12(11), 1595–1634. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400220>
- Roldán-Juárez and Jiménez-Munguía., 2013. Condiciones gastrointestinales modelo utilizadas para evaluar probióticos encapsulados. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 15–24.
- Rollot, J.M., Couvreur, P. Roblot-Treupel, L. and Puisieux, F., 1986. Physicochemical and Morphological Characterization of Polyisobutyl Cyanoacrylate Nanocapsules, 75(4), 361–364.
- Rzedowski, J., 1988. Análisis de la distribución geográfica del Complejo *Prosopis* en Norteamérica. *Acta Botánica Mexicana*, 3, 7–9.
- Sáez, V., Hernáez, E., Sanz Angulo, L. and Katime, I., 2004. Liberación controlada de fármacos. micropartículas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(2), 87–101.
- Safdar, R., Omar, A.A., Arunagiri, A., Regupathi, I., Thanabalan, M., 2019. Potential of chitosan and its derivatives for controlled drug release applications – A review. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 49, 642–659. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.10.020>
- Salazar, R., Pozos, M.E., Cordero, P., Perez, J., Salinas, M.C., Waksman, N., 2008. Determination of the antioxidant activity of plants from northeast Mexico. *Pharm. Biol.* 46, 166–170. <https://doi.org/10.1080/13880200701498952>
- Salvador, M. M., Enrique, L. I. C., Martínez, M. Y., Luis, L. I. C. and Gutiérrez, C., 2013. Ecología y usos de especies forestales de interés comercial de las

zonas áridas de México.

- Sanna, V., Roggio, A.M., Pala, N., Marceddu, S., Lubinu, G., Mariani, A., Sechi, M., 2015. Effect of chitosan concentration on PLGA microcapsules for controlled release and stability of resveratrol. *Int. J. Biol. Macromol.* 72, 531–536. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.08.053>
- Sarukhán, J. (CONABIO)., 2006. Capital natural y bienestar social. Conabio. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Shahidi, F., Han, X. Q., 1993. Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501–547. <https://doi.org/10.1080/10408399309527645>
- Silva, M. P., Piazza, L. A., López, D., López Rivilli, M. J., Turco, M. D., Cantero, J. J., Scopel, A. L., 2012. Phytotoxic activity in *Flourensia campestris* and isolation of (-)-hamanasic acid A as its active principle compound. *Phytochemistry*, 77, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.09.020>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M., 1991. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Stiles, E. W., 2009. *Torrey Botanical Society*. Society, 124(1), 67–70.
- Stojanovic, R., Belšcak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V., Bugarski, B., 2012. Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 685–696. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4632>
- Stuppner, H. and Müller, E. P., 1994. Rare flavonoid aglycones from *Flourensia retinophylla*. *Phytochemistry*, 37(4), 1185–1187. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89554-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89554-0)
- Tellez, M., Estella, R., Fredrickson, ED. and Crescini, C., 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L): Volatile constituents and antifungal, antialgal, and antitermite bioactivities. *Journal of Chemical Ecology*, 27(11), 2263–2273. <https://doi.org/10.1023/A:1012283005014>
- Thies, C., 2003. Microcapsules. *Functional Foods*. En C. Trugo, and M. Finglas (Eds.). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3892–3903. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01369-9>
- Vallet-Regí, M., Doadrio, J.C., Doadrio, A.L., Izquierdo-Barba, I., Pérez-Pariente, J., 2004. Hexagonal ordered mesoporous material as a matrix for the

controlled release of amoxicillin. *Solid State Ionics* 172, 435–439. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2004.04.036>

Vila Jato J.L., 1997. *Tecnología Farmacéutica – Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*, Editorial Síntesis, pp. 75-90.

Vines, R.A., 1960. *Trees, shrubs and woody vines of the southwest*.

Wong-Paz, J.E., Muñiz-Márquez, D.B., Aguilar-Zárate, P., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C.N., 2014. Microplate quantification of total phenolic content from plant extracts obtained by conventional and ultrasound methods. *Phytochem. Anal.* 439–444.

Xiao Ying, Q., Zhi Ping, Z., Jian Guo, J., 2011. Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1596–1603. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.006>

Yan, S., Shao, H., Zhou, Z., Wang, Q., Zhao, L. and Yang, X., 2018. Non-extractable polyphenols of green tea and their antioxidant, anti- $\alpha$ -glucosidase capacity, and release during *in vitro* digestion. *Journal of Functional Foods*, 42(December 2017), 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.006>

Yim, Z. H., Tiong, C. B., Mansa, R. F., Ravindra, P. and Chan, E. S., 2010. Release kinetics of encapsulated herbal antioxidants during gelation process. *Journal of Applied Sciences*, 10(21), 2668–2672. <https://doi.org/10.3923/jas.2010.2668.2672>

Zheng, L., Ding, Z., Zhang, M., Sun, J., 2011. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization. *J. Food Eng.* 104, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.11.031>

Zhang, L. and Kosaraju, S. L., 2007. Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. *European Polymer Journal*, 43(7), 2956–2966. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.04.033>

Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C. and Xie, S., 2010. DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *The AAPS Journal*, 12(3), 263–271. <https://doi.org/10.1208/s12248-010-9185-1>