

**ENCAPSULACIÓN DE ZUMO DE NARANJA AGRIA (*Citrus aurantium L.*) POR
COCRISTALIZACIÓN EN SACAROSA**

AUTORES:

KEVIN BLANQUICETT GONZALEZ

RAFAEL DAVID RANGEL TERRAZA

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

BERASTEGUI-CÓRDOBA

2016

**ENCAPSULACIÓN DE ZUMO DE NARANJA AGRIA (*Citrus aurantium L.*) POR
COCRISTALIZACIÓN EN SACAROSA**

AUTORES:

KEVIN BLANQUICETT GONZALEZ

RAFAEL DAVID RANGEL TERRAZA

DIRECTOR

RICARDO ANDRADE PIZARRO Ing. Ph.D.

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

BERASTEGUI-CÓRDOBA

2016

RESPONSABILIDAD DE LOS AUTORES

El jurado calificador no se hace responsable de las ideas emitidas por los autores.

Artículo 46, acuerdo 006 de Mayo 29 de 1979 del Consejo Superior.

NOTA DE ACEPTACIÓN

Nota de aceptación

Firma del jurado

Firma del jurado

Berástegui, 24 de Mayo del 2016.

DEDICATORIA

A Dios por estar a nuestro lado desde que éramos un retoño de vida.

A nuestros padres por apoyarnos incondicionalmente y ser los faros de nuestras vidas.

A nuestros hermanos porque siempre creyeron en nosotros.

A nuestros seres queridos por su dedicación, apoyo y paciencia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a:

La UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA, por habernos brindado una excelente calidad académica.

La División de Investigaciones de la Universidad de Córdoba, y en especial a la convocatoria "Proyectos de investigación en menor cuantía para financiar trabajos de grado en la modalidad de proyectos de investigación de pregrado" 2015, por su aporte económico a este trabajo.

RICARDO ANDRADE PIZARRO, nuestro director, por brindarnos su amistad, sus conocimientos y ser una guía y gran ayuda en todo este trabajo.

Los auxiliares de los Laboratorios de Ingeniería aplicada, Análisis de alimentos, Planta piloto y al grupo de investigación GIPAVE, por su tiempo y colaboración para con nuestra investigación.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	18
2.1. NARANJA AGRÍA (<i>Citrus aurantium L.</i>).....	18
2.2. ENCAPSULACIÓN DE INGREDIENTES ALIMENTARIOS	19
2.3. LA SACAROSA COMO ENCAPSULANTE	23
2.4. FUNDAMENTOS DE COCRISTALIZACIÓN	26
2.4.1. Sobresaturación	28
2.4.2. Nucleación	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1. MATERIA PRIMA	32
3.2. CARACTERIZACIÓN DEL ZUMO DE LA NARANJA AGRÍA (<i>CITRUS ARAUNTIUM L.</i>).....	33
3.3. COCRISTALIZACIÓN DEL ZUMO.....	33

3.4	TIEMPO DE COCRISTALIZACIÓN.....	35
3.5	PROPIEDADES FÍSICAS DEL ZUMO COCRISTALIZADO.....	35
3.6	VITAMINA C	36
3.7	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS	37
4.0	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1	ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA NARANJA AGRÍA (<i>CITRUS AURANTIUM L.</i>).....	40
4.2	CARACTERÍSTICAS DEL ZUMO DE NARANJA AGRÍA ENCAPSULADO	41
4.2.1	Tiempo de cocrystalización	41
4.2.2	Densidad aparente.....	43
4.2.3	Ángulo de reposo	45
4.2.4	Tiempo de solubilización	48
4.2.5	Humedad	50
4.2.6	Actividad del agua.....	52
4.2.7	Color	54
4.2.8	Vitamina C.....	59
5.	CONCLUSIONES.....	62
6.	RECOMENDACIONES.....	64
7.	BIBLIOGRAFIA	65
8.	ANEXOS	73

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Métodos para preparar microcápsulas.....	21
Tabla 2. Hidratación de azúcares en agua (2M-5°C).....	24
Tabla 3. Solubilidad de la sacarosa en agua a diferentes temperaturas.....	25
Tabla 4. Diseño experimental de cocrystalización del zumo de naranja agria.....	38
Tabla 5. Caracterización del zumo de la naranja agria.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura de la molécula de sacarosa.....	23
Figura 2.	Esquema del proceso de cocrystalización.....	26
Figura 3.	Sobresaturación en soluciones de azúcar.....	28
Figura 4.	Diagrama de Miers.....	30
Figura 5.	Tipos de nucleación y su clasificación.....	31
Figura 6.	Zumo de naranja agria cocrystalizado después del secado.....	41
Figura 7.	Gráfico de superficie de respuesta del tiempo de cocrystalización en función del zumo adicionado (%) y pH.....	42
Figura 8.	Gráfico de superficie de respuesta del tiempo de cocrystalización en función de los sólidos solubles (°Brix) y pH.....	43
Figura 9.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable densidad aparente en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).....	44
Figura 10.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable densidad aparente en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.....	45
Figura 11.	Gráfico de superficie de respuesta del ángulo de reposo en función de los sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).....	47
Figura 12.	Gráfico de superficie de respuesta del ángulo de reposo en función del pH y zumo adicionado (%).....	47

Figura 13.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable solubilidad en función de zumo adicionado (%) y sólidos solubles.....	49
Figura 14.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable solubilidad en función de zumo adicionado (%) y pH.....	50
Figura 15.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable humedad en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.....	51
Figura 16.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable humedad en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado.....	52
Figura 17.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable actividad de agua en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%)......	53
Figura 18.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable actividad de agua en función de zumo adicionado (%) y pH.....	54
Figura 19.	Gráfico de superficie de respuesta de la variable luminosidad (L*) en función del zumo adicionado (%) y pH.....	55
Figura 20.	Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color a* en función de zumo adicionado (%) y pH.....	56
Figura 21.	Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color a* en función de zumo adicionado (%) y sólidos solubles (°Brix)......	57
Figura 22.	Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color b* en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.....	58
Figura 23.	Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color b* en función de zumo adicionado (%) y pH.....	59
Figura 24.	Gráfico de superficie de respuesta del contenido de vitamina C en función del pH y zumo adicionado (%)......	61

ANEXOS

Anexo A.	Recolección y clasificación de la materia prima.....	73
Anexo B.	Montaje para la obtención el jarabe sobresaturado de sacarosa.....	73
Anexo C.	Montaje para la cocrystalización del zumo de naranja agria.....	74
Anexo D.	Separación del material particulado.....	75
Anexo E.	Muestras cocrystalizadas secadas al vacío.....	76
Anexo F.	Cribado de las muestras molturadas.....	76
Anexo G.	Montaje para la determinación del ángulo de reposo.....	77
Anexo H.	Determinación del tiempo de solubilización	78
Anexo I.	Determinación de vitamina C.....	78
Anexo J.	Efectos estimados para tiempo de cocrystalización.....	79
Anexo K.	Efectos estimados para densidad aparente.....	79
Anexo L.	Efectos estimados para ángulo de reposo.....	80
Anexo M.	Efectos estimados para el tiempo de solubilización	80
Anexo N.	Efectos estimados para humedad.....	81
Anexo O.	Efectos estimados para actividad de agua.....	81
Anexo P.	Efectos estimados para luminosidad (L*).....	82
Anexo Q.	Efectos estimados para color a*.....	82
Anexo R.	Efectos estimados para color b*.....	83
Anexo S.	Efectos estimados para el contenido de vitamina C.....	83

RESUMEN

La cocrystalización es un método de encapsulación, el cual consiste en la incorporación de un material activo en un conglomerado de sacarosa. En el presente trabajo se evaluó las condiciones de cocrystalización del zumo de naranja agria con sacarosa, determinando el efecto de la proporción de zumo adicionado, pH y sólidos solubles sobre de la propiedades físicas y fisicoquímicas (humedad, densidad aparente, color, tiempo de solubilización, actividad de agua y ángulo reposo), tiempo de cocrystalización y contenido de vitamina C de los cocrystalales de zumo de naranja agria. En el producto cocrystalizado se observó un aumento de la humedad cuando el pH disminuye. El tiempo de cocrystalización fue mayor a medida que aumentaba la proporción de zumo adicionado y sólidos solubles. La densidad aparente y el ángulo de reposo fueron superiores a la matriz de encapsulación, pero estuvieron en el rango de la mayoría de los alimentos en polvo. El color en sus parámetros L^* , a^* , b^* y la actividad de agua se vieron influenciados por el pH y sólidos solubles. Los cocrystalales lograron retener vitamina C entre un 3.94 y 5.25 mg/100 g en base seca; sin embargo se presentó una alta pérdida de vitamina C (90.64%) durante el proceso de cocrystalización con respecto al zumo fresco.

Palabras clave: naranja agria, encapsulación, cocrystalización, nucleación, sacarosa, sólidos solubles.

ABSTRACT

Crystallization is a method of encapsulation, which involves the incorporation of an active material in a cluster of sucrose. In this paper the conditions of cocrystallization of sour orange juice with sucrose was evaluated by determining the effect of the proportion of soluble added, pH and solids juice on the physical and physicochemical properties (moisture, bulk density, color, solubilization time, water activity and repose angle), cocrystallization time and vitamin C content of the cocrystals of bitter orange juice. In the cocrystallized product moisture increase it was observed when the pH decreases. Cocrystallization time was increased with increasing the proportion of juice soluble solids and added. The bulk density and angle of repose were superior to encapsulation matrix, but were in the range of most food powder. The color in their L *, a *, b * and water activity were influenced by pH and soluble solids. The co-crystals managed to retain vitamin C between 3.94 and 5.25 mg/100 g dry basis; however there was high loss of vitamin C (90.64%) during the process of cocrystallization with respect to fresh juice.

Keywords: bitter orange, encapsulation, co-crystallization, nucleation, sucrose, soluble solids.

1. INTRODUCCIÓN

La encapsulación en la industria alimentaria es un método frecuentemente utilizado para mejorar las propiedades de manejo y producción de algunos alimentos, conservando su valor nutricional y sensorial (vitaminas, minerales, aromas, sabores, etc). Existe una amplia variedad de técnicas para realizar este proceso, dentro de los cuales se encuentra la cocrystalización (Yañez et al. 2002). En la cocrystalización se modifica la estructura sólida, monocíclica y densa de los cristales puros de sacarosa, para obtener un aglomerado irregular y poroso que facilite la incorporación de un ingrediente activo (Chén et al. 1988; Bhandari et al. 1998). Esta técnica mejora la solubilidad, humectabilidad, homogeneidad, dispersabilidad, hidratación, la propiedad antiapelmazante y la capacidad de flujo del ingrediente activo encapsulado (Beristain et al. 1996).

Diversos componentes pueden ser encapsulados, entre los cuales se encuentran: ingredientes activos, sustancias volátiles, emulsionantes, ácidos, entre otros (Chén et al. 1988). Una aplicación especialmente importante en alimentos es la encapsulación de jugos de frutas, debido a la protección que ésta les brinda a sus componentes,

principalmente a la vitamina C, la cual se oxida fácilmente y puede degradarse durante el procesamiento o almacenamiento (Parra 2010).

El zumo de naranja agria como fuente importante de ingredientes activos se destaca por su sabor único, beneficios en la salud y contenido de vitamina C (Alonso 2004). Un encapsulado de zumo de naranja agria, iría de la mano con las tendencias actuales de la industria alimentaria en la elaboración de productos de origen natural y nutricionalmente de calidad (Astray et al. 2009).

El objetivo de este estudio fue la evaluación las condiciones de cocrystalización del zumo de naranja agria con sacarosa, determinando el efecto de la proporción de jugo añadido, pH y sólidos solubles del zumo sobre de la propiedades fisicoquímicas y el contenido de vitamina C del producto obtenido.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. NARANJA AGRIA (*Citrus aurantium L.*)

El naranjo agrio es un árbol oriundo de Asia (India, sureste de China y sur de Vietnam), el cual fue posteriormente introducido y naturalizado en Europa y América. Se caracteriza por presentar abundante ramaje cercano a los 8-10 m y de color verdoso, hojas ovado-lanceoladas de hasta 8 cm de largo, sinuosas o crenadas, brillantes y con pecíolo alado; flores aromáticas blancas o rosadas, ubicadas en la axila de las hojas. El fruto es globoso, de 7.5 cm de diámetro, de sabor amargo y color naranja en su madurez (Alonso 2004). La naranja agria es muy apreciada en España para la elaboración de confituras y mermeladas, ya que contiene elevados porcentajes de pectina que ayudan a conseguir una textura adecuada (Martínez et al.2006).

El fruto de naranja agria en su etapa de crecimiento presenta coloración verdosa debido a la presencia de clorofila en la cascara y en el zumo. Durante su proceso de maduración en el epicarpio comienza un cambio de coloración verdosa a amarillo-naranja, producto de la degradación progresiva de las clorofilas y el aumento de la biosíntesis de carotenoides asociado a la desaparición de los cloroplastos y la posterior formación de cromoplastos. Dentro de los principales carotenoides presentes en la naranja agria se encuentran la violaxantina, luteoxantina, auroxantina, cryptoxantina, β -cryptoxantina, mutatoxantina, isoluteina y zeaxantina, los cuales en su mayoría están en el zumo y le brindan su carácter antioxidante (Meléndez et al. 2007).

De igual forma el zumo de naranja agria se destaca nutricionalmente por su contenido de vitamina C y minerales como el potasio, magnesio y calcio. Además de los ácidos fólico, oxálico, tartárico, málico y cítrico, éste último potencia la acción de la vitamina C (Alonso 2004). Cabe destacar, que la vitamina C se pierde durante el procesamiento y almacenamiento del zumo, ya que esta es la vitamina más lábil debido a efectos de oxidación, interacción con otros metales, temperatura, fisiológicos, etc., por esta razón se considera como índice de retención de vitaminas (Odriozola 2009).

De los subproductos del procesamiento del zumo de naranja agria, se obtienen aceites esenciales y otros compuestos de alta aceptación en la industria alimentaria; en primer lugar, se utilizan por su sabor y aroma en bebidas alcohólicas y no alcohólicas, gelatinas, refrescos, helados, aceites, dulces y pasteles; en la industria farmacéutica, sus aceites

esenciales volátiles como agentes aromatizantes para enmascarar sabores desagradables (Garau et al. 2007; Karoui y Marzouk 2009). Con el fin de conservar y extender la vida útil, tanto de los componentes del zumo como de sus subproductos, estos se almacenan y comercializan en forma encapsulada (Yujing et al. 2014).

2.2. ENCAPSULACIÓN DE INGREDIENTES ALIMENTARIOS

La microencapsulación es una técnica que permite recubrir gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, usando un material de pared que forma una película porosa capaz de liberar el material activo en condiciones específicas (Araneda y Valenzuela 2009). A su vez, la película o barrera formada está constituida por cadenas con componentes que le confieren propiedades hidrofóbicas y/o hidrofílicas (Fuchs et al. 2006). De manera general el término microencapsulación se suele usar en la industria alimentaria, para referirse al encapsulamiento de sustancias de bajo peso molecular o en pequeñas cantidades; encapsulación y microencapsulación se emplean indistintamente (Yañez et al. 2002).

El propósito general de la microencapsulación es proporcionar partículas que controlen la liberación del material activo, durante el transporte o liberación del material en cuestión. La pared de la microcápsula es la encargada de controlar la difusión del componente activo de la microcápsula (Vilstrup 2004). En la encapsulación, el material exterior es denominado agente de encapsulación o material de pared, mientras que el

ingrediente interno se le llama material activo. En la industria alimentaria se utiliza la microencapsulación por diversas razones (Parra 2010), entre las que se destacan:

- ✓ Proteger el material activo de la degradación producida por el medio ambiente (calor, aire, luz, humedad).
- ✓ El compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado en un punto determinado.
- ✓ Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer más fácil su manejo (un material líquido convertido a polvo), la higroscopia puede ser reducida, la densidad se modifica y el material contenido puede ser distribuido más uniformemente en una muestra.
- ✓ Puede ser empleado para separar componentes, con el fin de que estos no reaccionen.
- ✓ Estabilización de principios activos inestables.
- ✓ Transformación de líquidos en sólidos (Astray et al. 2009).

En la actualidad se han desarrollado diversas técnicas para la obtención de microcápsulas, las cuales pueden ser clasificadas dentro de tres categorías: químicas, físicas y fisicoquímicas, de acuerdo a con la Tabla 1). El tipo de proceso que se utiliza depende en gran medida de las propiedades del agente encapsulante, así como las limitaciones del material activo (King 1995).

Tabla 1. Métodos para preparar microcápsulas.

Físicos	Químicos	Fisicoquímicos
Secado por aspersión Enfriamiento tras atomización (Spray Chilling) Atomización en lecho fluidizado Co cristalización Extrusión Liofilización	Inclusión molecular Polimerización interfacial	Coacervación (Separación en fase acuosa) Separación en fases orgánicas

Fuente: Shahidi y Han (1993); Constant y Stringheta (2002).

Teóricamente se considera que se puede encapsular cualquier material que necesita ser protegido, aislado o lentamente liberado. En relación con los alimentos o los componentes de interés, entre estos se incluyen ácidos, lípidos, enzimas, microorganismos, saborizantes, edulcorantes artificiales, vitaminas, minerales, agua, levadura, colorantes y sales (Peterson y Johnson 1978; Desai y Park 2005).

La técnica de microencapsulación no es exclusiva de la industria alimentaria, otras industrias la aplican para obtener formulaciones microencapsuladas, tales como: cosméticos, pigmentos, adhesivos, medicamentos, pesticidas, agentes de curado, además de enzimas y microorganismos (Santos et al. 2000).

Larroza y Zerlotti (2007) en sus estudios sobre la encapsulación de carotenoides encontraron que estos compuestos tenían gran estabilidad durante su almacenamiento,

incluso en ambientes hidrofílicos. De igual forma la encapsulación también es clave para evitar la oxidación de aceites esenciales, la pérdida de sustancias volátiles, y el control al momento de liberar aromatizantes (Ré 2000).

Las microcápsulas suelen tener tamaños distintos y en función de éste establecer su clasificación. Normalmente se clasifican en dos categorías, denominando aquellas partículas con dimensiones entre 1 y 1000 μ m como micropartículas, y aquellas con tamaños entre 10 y 1000nm como nanopartículas (Fabra et al. 2009).

En la actualidad las distintas industrias incluyen diversos tipos de microencapsulantes. Según Lakis (2007) los componentes o agentes encapsulantes se clasifican en diversas categorías, tales como:

- 1) Ceras y lípidos: Cera de abejas, ceras de carnauba y candelilla, emulsiones de micro y macro cera, grasas naturales y modificadas, diesterato de glicerol, grasa naturales y modificadas.
- 2) Proteínas: Gelatinas, proteínas de suero de leche, zeína, proteínas de soya, gluten, etc. Todas las proteínas están disponibles tanto en su forma nativa como modificada.
- 3) Carbohidratos: almidones, maltodextrinas, quitosano, sacarosa, glucosa, etilcelulosa, acetato de celulosa, alginatos, carragenina.etc.
- 4) Polímeros de grado alimentarios: Prolipropileno, polivinilacetato, politireno, polibutadieno.

Entre los diversos métodos para encapsular, la cocrystalización es usada con frecuencia en la industria alimentaria, donde la sacarosa se utiliza de manera general para encapsular el material activo. La cocrystalización es una técnica que permite incorporar dos ingredientes en un grupo de cristales porosos de sacarosa, los cuales son formados por cristalización espontánea (Astolfi et al. 2005).

2.3. LA SACAROSA COMO ENCAPSULANTE

La sacarosa es el disacárido más extendido del reino vegetal, este se halla en casi todos los frutos (remolacha 16-20%, caña de azúcar 14-16%); se produce principalmente en la India, Brasil, Cuba, China, México, E.E.U.U. y Filipinas (Bolívar et al. 2005). Según la NTC 778 (1997) la azúcar refinada, es el producto natural cristalizado para el consumo humano constituido por lo menos en un 99.3% por sacarosa.

La sacarosa posee la fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$, masa molar de 342 g/mol, se cristaliza en un sistema monoclinico y al superar la temperatura de $180^{\circ}C$ llega al punto de fusión donde se observa la pirolisis (Daub y Seese 2005; Fennema et al. 2010). La figura 1 muestra la sacarosa y el enlace glicosídico entre la fructosa y glucosa.

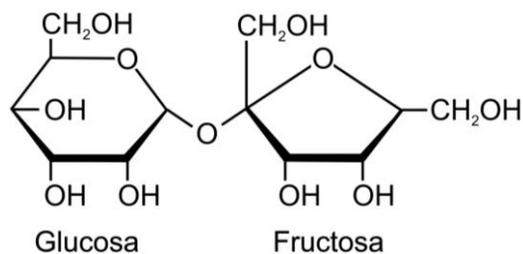


Figura1. Estructura de la molécula de sacarosa.

Fuente: Fennema et al. (2010).

La sacarosa al igual que otros carbohidratos de bajo peso molecular, puede producir soluciones concentradas de alta osmolalidad, debido a su alta hidrófilicidad y solubilidad. Estas soluciones pueden usarse como edulcorantes, conservantes y humectantes (Fennema et al. 2010). La sacarosa en medio ácido térmicamente se descompone en glucosa y fructosa, ya que sufre una ruptura por la protonación del átomo de oxígeno en el enlace glicosídico por iones H^+ (Lee et al. 2011). La presencia de azúcares reductores en la cristalización interfiere en el ordenamiento de la sacarosa no hidrolizada, lo cual promueve la formación de muchos cristales pequeños de sacarosa o impide por completo la cristalización (Quintana et al. 2005).

La presencia de grupos hidroxilos en la sacarosa le permite enlazarse con el agua mediante enlaces de hidrogeno brindándole una gran capacidad de hidratación (Tabla 2) y un alto grado de solubilidad (Tabla 3); esto constituye una propiedad importante de los hidratos de carbono ya que su contenido puede ser alto en solución sin afectar significativamente la textura y la actividad de agua (Badui 2006; Fennema et al. 2010).

Tabla 2. Hidratación de azúcares en agua (2M-5°C).

Carbohidrato	Capacidad de hidratación (moles H_2O / mol azúcar)
Glucosa	3.7 ± 0.2
Maltosa	5.0 ± 0.2
Sacarosa	6.6 ± 0.2
Fructosa	6.9 ± 0.2

Fuente: Badui (2006)

Tabla 3. Solubilidad de la sacarosa en agua a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Solubilidad (g/g agua)	Solubilidad (g/100g solución)
95	4.4775	81.74
100	4.7637	82.65
105	5.218	83.9
110	5.618	84.9
115	6.09	85.9
120	6.653	86.9
125	7.36	88
130	8.181	89.1
135	9.25	90.2
140	10.645	91.4

Fuente: Mathlouthi y Reiser(1995).

La sacarosa como muchos otros carbohidratos, se encuentra ampliamente asociada a la industria alimentaria, tales como la confitera, chocolates, refrescos, otras. Sin embargo las características físicas de está definen el uso de la misma en la industria. Por ejemplo, la goma de mascar requiere que la sacarosa posea tamaño de cristales de 20-40 μm para evitar sensaciones arenosas en la boca (Geary 2008; Lee y Ulrich 2009).

No sólo el tamaño de los cristales de sacarosa influye en el producto final fabricado, la cristalización de la sacarosa dentro de estos productos desde el estado líquido al sólido le brinda características de calidad únicas. La sacarosa es un material tan versátil que ha encontrado aplicación como encapsulaste en la industria de la cocrystalización, debido a su rápida disolución en agua, estabilidad térmica, baja hidrosopicidad, bajo costo y su propiedad física para cristalizarse controladamente (Geary 2008).

2.4. FUNDAMENTOS DE LA COCRISTALIZACIÓN

La cocrystalización es un proceso de encapsulación el cual frecuentemente en alimentos utiliza la sacarosa como matriz para la incorporación de un núcleo (Figura 2), donde el segundo ingrediente es envuelto espontáneamente en sacarosa (cerca a 120°C) obteniendo partículas cristalinas muy pequeñas de 3 a 30 μm (Chén et al. 1988; Varzakas y Constantina 2015).

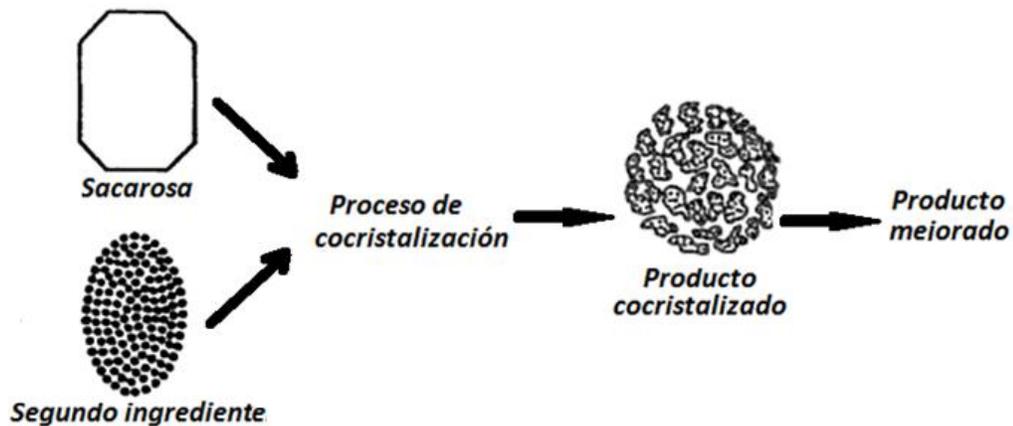


Figura2. Esquema del proceso de cocrystalización.

Fuente: Chén et al. (1988).

Conceptualmente la cocrystalización se basa en los principios de la cristalización; en éstas las moléculas en la red se unen mediante sintones, los cuales son unidades estructurales básicas no covalentes conformadas por enlaces van der Waals, interacciones $\pi - \pi$ y enlaces de hidrógeno entre los grupos funcionales de las moléculas (Jayasankar 2008). La cristalización está asociada con la formación de inestabilidad en la solución, con el fin de que las moléculas del soluto se difundan a través del seno de esta y migren a los cristales ya presentes o formen nuevos. La inestabilidad se obtiene disminuyendo la

solubilidad del soluto en la solución, por lo cual la información de solubilidad es básica a la hora de plantear el experimento (Astolfi et al. 2005; Domínguez y Díaz 2003).

La velocidad de crecimiento de cristales a partir de soluciones sobresaturadas se da en tres pasos: sobresaturación, nucleación y maduración. En estas existes transferencia de masa de la solución a los cristales en crecimiento y una de reacción de superficie, donde la velocidad de agitación es un factor importante de transferencia de masa ya que a mayor velocidad de agitación mayor la tasa de difusión (Domínguez y Diaz 2003; Geary 2008).

Diversos autores han estudiado el proceso de cocrystalización en numerosos materiales activos. Por ejemplo, Beristain et al. (1994) encapsularon en sacarosa extracto concentrado de flor de Jamaica (70°Brix), variando el extracto adicionado (10, 13 y 16%) y el pH de éste (3.9, 4.1 o 4.3); al nivel de extracto adicionado del 10% y pH 4.1, obtuvieron capsulas con contenido de humedad de 3.34%, solubilidad de 28.3 s y densidad aparente de 505 kg/m³. Bhandari et al. (1998) cocrystalizaron miel de abeja a 82°Brix en jarabe de sacarosa usando porcentajes de miel del 10, 15 y 20%, obteniendo en general un material relativamente seco con buenas propiedades de flujo y con pequeñas diferencias en la cantidad de compuestos volátiles aromáticos en relación con la miel. Astolfi (2003) estudio la cinética de cristalización al cocrystalizar jugo concentrado de maracuyá al 64.5°Brix en sacarosa, variando los niveles de pH entre 3.5-4.5, y el porcentaje de jugo añadido 10% y 15%; evidenciando que la velocidad de cristalización se acelera al aumentar el pH y al reducir el porcentaje de jugo adicionado. Quintana et al. (2005) evaluaron a nivel piloto el efecto de la velocidad de agitación y

perfiles de enfriamiento en la velocidad de crecimiento de cristales de sacarosa, obteniendo los mejores resultados para una velocidad de agitación de 600 rpm y perfil de enfriamiento natural.

2.4.1. Sobresaturación

La sobresaturación en soluciones de azúcar hace referencia a mezclas que poseen mayor cantidad de moléculas de las que termodinámicamente se le permite, lo cual impulsa la cristalización. En los procesos de cocrystalización el objetivo es obtener cristales de componentes múltiples, evitando así la cristalización aislada de estos (Morissette et. al 2004; Geary 2008). La formación de una solución sobresaturada de azúcar mediante una variedad de métodos se puede lograr como se indica en la figura 3.

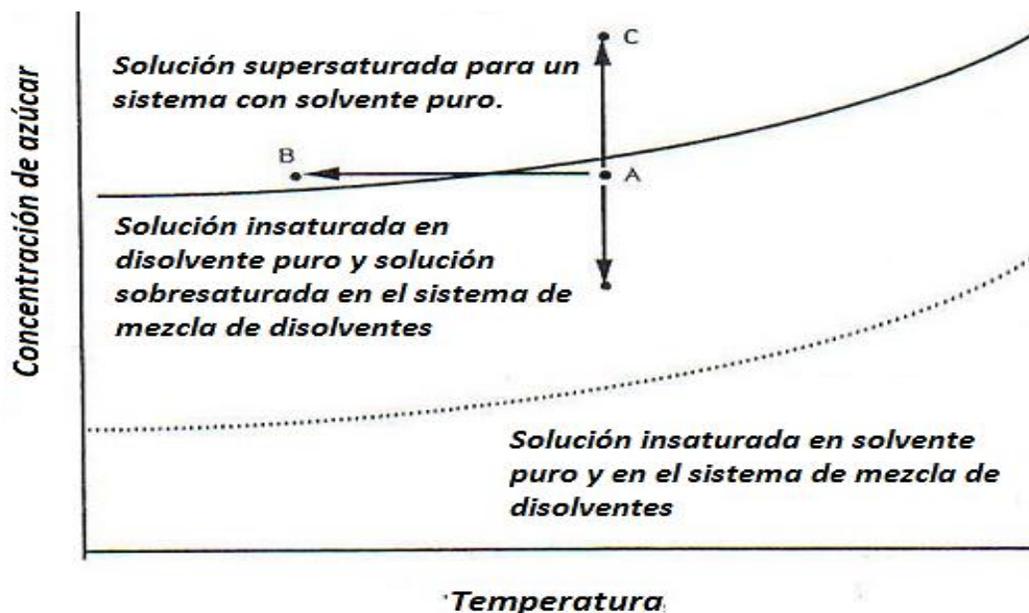


Figura 3. Sobresaturación en soluciones de azúcar.

Fuente: Geary (2008).

La línea AB (figura 3) representa el efecto de enfriamiento de una solución por debajo del punto de saturación, donde la refrigeración de la solución causa la disminución de la solubilidad ya que a medida que la temperatura desciende, la concentración de azúcar aumenta provocando un grado más alto de saturación. Sí se extrae agua de la solución, como se muestra en la línea CA se provoca un aumento en la concentración de azúcar, o sí se adiciona un segundo disolvente en el cual la azúcar es insoluble se provoca una disminución en la solubilidad del azúcar (línea AD). Cuando se presenta alguna de estas fuerzas en una solución de azúcar, se afecta el equilibrio termodinámico provocando la cristalización, sí la solución es llevada a la zona de sobresaturación (Astolfi 2003; Geary 2008).

En los procesos de cocrystalización partiendo de una solución saturada, para promover la inestabilidad termodinámica se emplean diagramas de Miers, los cuales son gráficos de concentración vs temperatura, en los que se visualizan las diferentes regiones o estados de saturación del sistema. En el diagrama de Miers (ver figura 4) se observa que la solución se encuentra insaturada para cualquier combinación de concentración-temperatura por encima de la línea de saturación, mientras que hacia debajo de ésta línea la solución se encuentra sobresaturada. Sí la solución reside en la región lábil se encontrará expuesta a una espontánea cristalización, mientras que sí se encuentra en la región metaestable solo habrá formación de cristales por nucleación (Domínguez y Díaz 2003; Geary 2008).

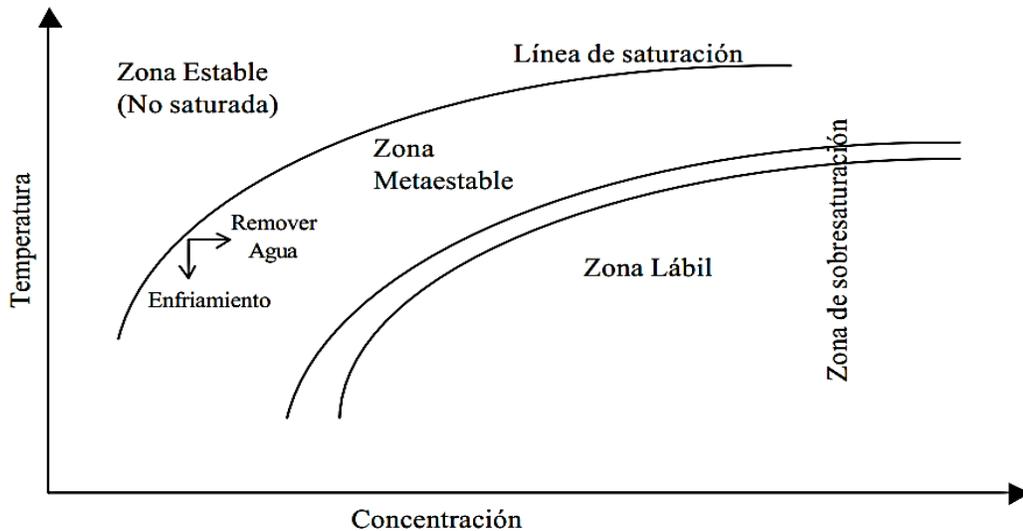


Figura4. Diagrama de Miers.

Fuente: Domínguez y Díaz (2003).

En una solución en estado metaestable para promover la cristalización debe existir una fuerza externa impulsora (temperatura, presión o nucleación), la cual ayude a superar la barrera de energía que define la condición metaestable. El logro de este criterio alivia la condición metaestable, donde el sistema pasa a un estado de menor energía y termodinámicamente más estable (Astolfi 2003).

2.4.2. Nucleación

La nucleación es la primera etapa de transición para formar un material cristalino, sin la cual no puede darse el crecimiento de los cristales. Esta nucleación puede lograr mediante diversos métodos, tales como enfriamiento, calentamiento o evaporación del disolvente. El mecanismo de nucleación se clasifica en primaria o secundaria (Figura 5):

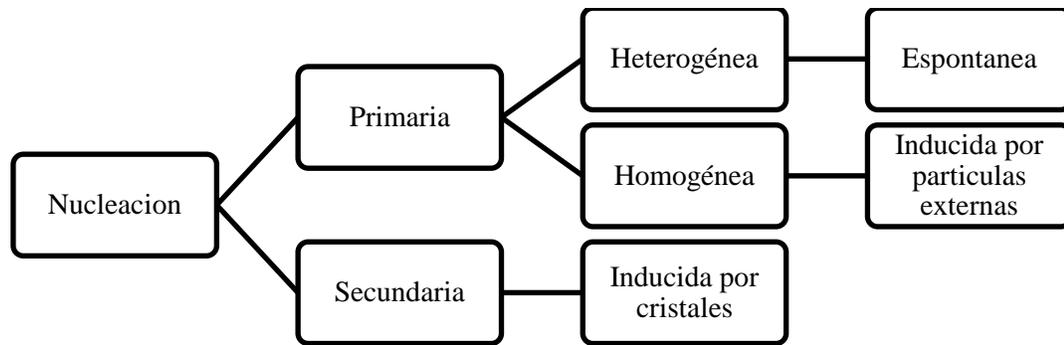


Figura 5. Tipos de nucleación y su clasificación

Fuente: Geary (2008)

La nucleación homogénea también conocida como capilar se atribuye a las fluctuaciones en una solución sobresaturada, las cuales conducen a la formación de pequeños grupos de moléculas (clusters), quienes forman núcleos que dan lugar al crecimiento de cristales solo si tienen el tamaño suficiente. La cristalización homogénea rara vez se presenta en soluciones sobresaturadas debido a la presencia de impurezas que actúan como sitios de nucleación. En consecuencia, la formación de núcleos puede ocurrir a bajos niveles de sobresaturación dándose así la nucleación heterogénea, el cual es el mecanismo por el cual la mayoría de los procesos de cristalización se dan. Por otra parte, la nucleación secundaria es el resultado de la introducción de cristales de siembra en una solución sobresaturada, la cual se puede dar a niveles más bajos de sobresaturación en comparación con la nucleación primaria (Astolfi 2003; Geary 2008)

Una vez la condición metaestable en la solución sobresaturada es aliviada, está pasa a un estado menos energético en el cual se produce el crecimiento de los cristales. Este crecimiento de los cristales se caracteriza por el aumento del tamaño del mismo, el cual se produce ya sea por la adición o la agregación molecular de otro núcleo (Astolfi 2003).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue de tipo experimental y se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios de Análisis de alimentos y de Ingeniería Aplicada, adscritos al Departamento de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Córdoba, sede Berástegui ubicada en el kilómetro 10 vía Cereté - Ciénaga de Oro del departamento de Córdoba.

3.1. MATERIA PRIMA

Los frutos de naranja agria (*Citrus aurantium L.*) se recolectaron en la finca San Antonio perteneciente al corregimiento de Malagana de Ciénaga de Oro, con un estado de maduración grado 2 (ver Anexo A), de acuerdo a Barón y Villa (2013). Estas se almacenaron en sacos de fique, se enjuagaron empleando agua a presión y se desinfectaron por inmersión en cloro diluido al 0.5% durante 10 min.

3.2. CARACTERIZACIÓN DEL ZUMO DE NARANJA AGRIA (*CITRUS AURANTIUM L.*).

Para la obtención del zumo de naranja agria se utilizó un exprimidor mecánico y fue filtrado con tela fina. Luego de la extracción del zumo se procedió a realizar los siguientes análisis:

- ✓ Acidez titulable: Método AOAC 942.15.
- ✓ Color (L^* , a^* , b^*): Colorímetro Colorflex EZ 45(HunterLab).
- ✓ Humedad: Método AOAC 20.013.
- ✓ pH: Método AOAC 981.12.
- ✓ Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix): Método AOAC 932.12.
- ✓ Vitamina C: Método AOAC 967.21.

3.3. COCRISTALIZACIÓN DEL ZUMO

Al zumo de naranja agria se le ajustó el pH a 3.8, 4.15 y 4.5 empleando Hidróxido de Calcio. Luego se concentró el zumo en un rota-evaporador (marca Heidolph, modelo Laborota 4000 eco) hasta la concentración de sólidos solubles requerida (50, 55 y 60 $^{\circ}$ Brix), según lo señalado por el diseño experimental. Al finalizar, el zumo concentrado fue pesado, etiquetado y almacenado en refrigeración hasta su posterior empleo.

Para preparar los jarabes de sacarosa se pesaron 300 g de azúcar y 50 ml de agua, mezclándolos en un beacker de 600ml, con el fin de obtener una solución concentrada de 70° Brix (Bhandari et al. 1998). Esta solución fue sometida a calentamiento en una plancha eléctrica a 180°C con agitación magnética a 1000 rpm, verificando constantemente la temperatura del jarabe hasta observar una coloración blanca, aproximadamente a una temperatura de 118°C (ver anexo B), la cual indicaba el grado de sobresaturación requerido para que ocurra la cristalización espontánea al enfriarse. En este punto el jarabe fue retirado de la fuente de calentamiento y se le añadió la cantidad estipulada de zumo concentrado. La mezcla fue sometida a agitación constante de 600 rpm (ver anexo C), usando un agitador mecánico portátil (marca Maquita, modelo 906) dotado con aspas metálicas rectas de 4.5cm de diámetro. Al momento de observar la formación de un material sólido particulado el proceso de agitación fue detenido.

El material particulado fue separado (ver anexo D) y posteriormente sometido a un proceso de secado a 45°C en una estufa al vacío (marca comercial Marconi, MA modelo 037) durante 24 horas (ver anexo E), seguido por una molturación y cribado utilizando un colador comercial (ver anexo F) (Montes et al. 2006). Finalmente, el producto se depositó en bolsas de polietileno transparente (Calibre 200) tipo Ziploc (López et al. 2014), y se almacenaron en cavas de icopor hasta la realización de los análisis correspondientes.

3.4. TIEMPO DE COCRISTALIZACIÓN

El tiempo de cocrystalización se determinó mediante la medición del tiempo de agitación transcurrido (en segundos) entre la adición del jugo concentrado al jarabe sobresaturado, y la aparición de un material sólido particulado (Astolfi 2003).

3.5. PROPIEDADES FÍSICAS DEL ZUMO COCRISTALIZADO

Al zumo cocrystalizado se le determinaron las siguientes propiedades físicas:

- ✓ **Densidad aparente:** se midió de acuerdo a la metodología reportada por Beristain et al. (1996). Determinando el volumen ocupado por aproximadamente 30 g de polvo depositado una probeta graduada de 250 ml.

- ✓ **Ángulo de reposo:** para la medición del ángulo de reposo, el material se introdujo en un embudo metálico incorporado en una plataforma metálica (ver anexo G) y fue recogido en una caja de petri. La cantidad de muestra utilizada correspondía a la necesaria para cubrirla placa inferior, formando un cono. Con los valores del radio de las cajas de petri y la altura del cono del polvo, se determinó el ángulo de reposo (Bhandari et al., 1998). La misma cantidad de muestra, altura del embudo y cajas de petri se utilizaron para todos experimentos y las mediciones se realizaron por triplicado.

- ✓ **Tiempo de solubilización:** se determinó mediante la medición del tiempo requerido para la disolución completa de 10 g del producto en 100 ml de agua destilada a 25 °C contenida en una probeta graduada. La disolución fue sometida a agitación constante a 50 rpm, usando un agitador mecánico portátil Marca Maquita, modelo 906 (ver anexo H). El tiempo se midió con un cronometro, hasta que no se observaron sólidos en el líquido (Beristain et al. 1996).

- ✓ **Humedad:** se determinó por gravimetría con secado en un horno por convección (Marconi, modelo 030 MA) a 110 °C durante 24 horas. Las mediciones de peso fueron hechas en una balanza analítica modelo Chyo JK 200.

- ✓ **Actividad del agua:** la actividad de agua de los polvos se determinó mediante el equipo Novasina (Lab Master) a temperatura de 25°C, bajo un tiempo de observación de 2 minutos.

- ✓ **Color:** la medición del color (L^* , a^* , b^*) se llevó a cabo en un Colorímetro Color Flex EZ marca HunterLab el cual utiliza una escala de luminosidad L^* (100=blanco, 0=negro), rojo-verde a^* (positivos=rojo, negativos=verde, 0=neutro) y azul-amarillo b^* (positivo=azul, negativo=amarillo, 0=neutro). Para esto se empleó un ángulo de observación de 10° y un iluminante estándar D65.

3.6. VITAMINA C

Para la medición del contenido de vitamina C se empleó el método de la AOAC 967.21/90. Para ello se usó una solución de 2,6-diclorofenolindofenol a 400 ppm la cual se utilizó para titular aproximadamente 5 g de cada una de las muestras, que habían sido previamente diluidas en 20 mL de ácido oxálico 2%, la titulación se llevó a cabo hasta obtener un color rosa constante. Se tituló además 0.2 mL de una solución patrón de ácido ascórbico 0.2 % (p/v) y 0.2 mL de agua destilada empleada como blanco. Los resultados se expresaron en mg de Vitamina C por 100 g de muestra y en porcentaje de recuperación de vitamina C.

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS

Para estudiar el efecto del pH (3.8 y 4.5), sólidos solubles del zumo (50 y 60°Brix) y porcentaje de zumo concentrado adicionado al jarabe de sacarosa (10 y 20%) sobre el tiempo de cocrystalización, las propiedades físicas (densidad aparente, ángulo de reposo, solubilidad, humedad, color, actividad de agua) y contenido de vitamina C de los cocrystalos de zumo de naranja agria (*Citrus aurantium L.*), se empleó un diseño de Box-Behnken con tres variables independientes, 3 puntos centrales y 1 replica (ver tabla 4).

Tabla 4. Diseño experimental de la cocrystalización del zumo de naranja agria (*Citrus aurantium L.*).

Ensayo	pH	Concentración del zumo, °Brix	Zumo adicionado, %
1	4.15	55	15
2	3.8	50	15
3	4.5	50	15
4	3.8	60	15
5	4.5	60	15
6	3.8	55	10
7	4.5	55	10
8	4.15	55	15
9	3.8	55	20
10	4.5	55	20
11	4.15	50	10
12	4.15	60	10
13	4.15	50	20
14	4.15	60	20
15	4.15	55	15

Para determinar los efectos significativos se realizó un análisis de varianza (ANOVA), y para predecir el comportamiento experimental de las variables de respuesta se empleó un modelo polinomial de segundo orden (Ec. 1). Las gráficas de superficie de respuesta y el análisis del diseño se realizaron utilizando el programa estadístico *JMP* 9.0.1 (SAS Institute).

$$\hat{Y} = m + \beta_0 A + \beta_1 B + \beta_2 C + \beta_3 AB + \beta_4 AC + \beta_5 BC + \beta_6 A^2 + \beta_7 B^2 + \beta_8 C^2 \quad (1)$$

Dónde:

\hat{Y} : es el promedio de la variable de respuesta: color, tiempo de solubilización, tiempo de cocristalización, humedad, densidad aparente, ángulo de reposo, actividad de agua y contenido de Vitamina C.

A: pH del zumo concentrado.

B: Concentración del zumo.

Z: Porcentaje de zumo adicionado.

m: Media de regresión.

β_0, β_1 y β_2 : Efectos lineales.

β_3, β_4 y β_5 : Interacciones entre factores.

β_6, β_7 y β_8 : Efectos cuadráticos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ZUMO DE NARANJA AGRIA (*CITRUS AURANTIUM L.*)

En la tabla 5 se presentan los valores fisicoquímicos determinados al zumo de naranja agria. Las muestras de zumo de naranja agria analizadas presentaron valores semejantes a lo reportado por Caballero (2005). En la composición de la naranja agria se destaca la vitamina C con un contenido de 49.1 ± 1.94 mg/100g; cantidad ligeramente inferior a la naranja valenciana (53.2 mg/100g) y superior a mandarina (30.8 mg/100g), mostrando que este fruto de poco uso en nuestra región debería ser más valorado (Pamplona 2006).

Tabla 5. Caracterización del zumo de la naranja agria

Parámetro	Cantidad
Ácido cítrico	4.13 ± 0.08
Sólidos solubles (°Brix)	9.72 ± 0.24
Humedad (%)	90.6 ± 0.08
pH	2.94 ± 0.05
Vitamina C (mg/100g)	49.1 ± 1.94
Luminosidad, L*	30 ± 0.06
Color, a*	-2.4 ± 0.05
Color, b*	5.88 ± 0.06

4.2. CARACTERÍSTICAS DEL ZUMO DE NARANJA AGRIA ENCAPSULADO

En la figura 6 se presentan diferentes muestras cocristalizadas antes de ser molturadas. Visualmente se pudo apreciar que las muestras obtenidas presentaron diferencias en el color, textura y morfología.



Figura 6. Zumo de naranja agria cocristalizado después del secado.

4.2.1. Tiempo de cocristalización

Los cocristales de zumo de naranja agria presentaron valores de tiempo de cocristalización en un rango de 830 a 2760 s, los cuales concuerdan con los reportados para jugo de maracuyá cocristalizado 750 a 2700 s (Montes et al. 2006). Los factores pH ($p=0.001$), sólidos solubles del zumo ($p=0.001$), porcentaje de zumo adicionado ($p=0.001$), y el factor cuadrático pH ($p=0.0018$), presentaron influencia significativa ($p<0.05$) sobre el tiempo de cocristalización (ver anexo J). En la figura 7 se observa

como la variable de estudio aumenta (95%) en la medida que el zumo adicionado pasa de 10-20%. Esto posiblemente se deba a que durante la adición del zumo concentrado se produce un enfriamiento de la solución de sacarosa, lo cual promueve el paso de la zona metaestable a una zona lábil. De igual forma, al adicionar zumo concentrado provoca una dilución de la mezcla, disminuyendo a su vez el grado de sobresaturación; siendo esta disminución un tanto mayor cuando los niveles de jugo adicionado y/o los sólidos solubles aumentan (Astolfi 2003).

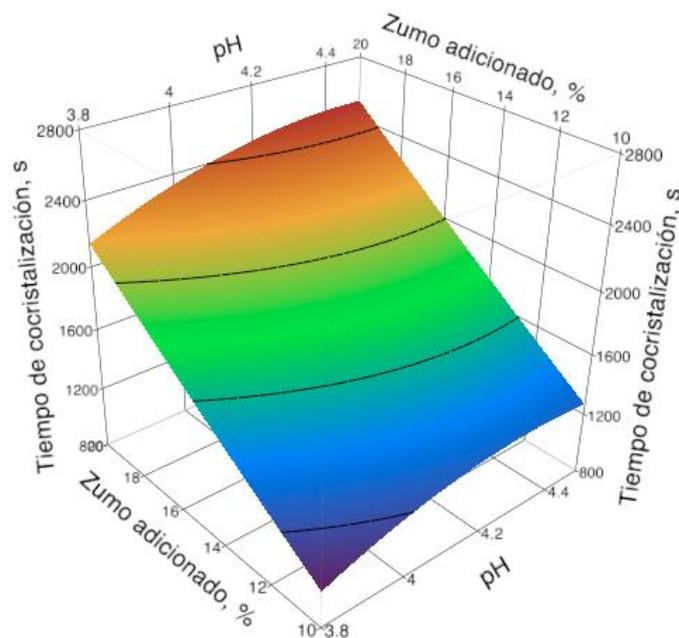


Figura 7. Gráfico de superficie de respuesta del tiempo de cocrystalización en función del zumo adicionado (%) y pH.

En la figura 8 se evidencia un aumento del tiempo de cocrystalización (~43%) en la medida que los sólidos solubles pasan de 50 a 60°Brix.

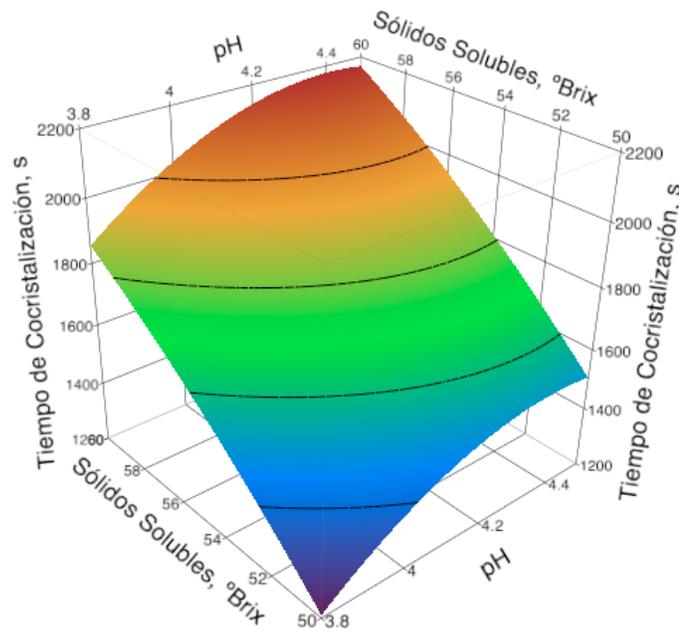


Figura 8. Gráfico de superficie de respuesta del tiempo de cocrystalización en función de los sólidos solubles (°Brix) y pH.

4.2.2. Densidad aparente

En términos generales los valores de densidad aparente de los cocrystalos de zumo de naranja agria estuvieron comprendidos entre 500 y 653 Kgm^{-3} . Estos resultados concuerdan con los datos reportados para cocrystalos de aceite de cascara de naranja, 674.4 - 752.3 Kgm^{-3} (Beristain et al. 1996), extracto de yerba mate, $697 \pm 94 \text{ Kgm}^{-3}$ (Deladino et al. 2007) y jugo de maracuyá $\sim 700 \text{ kg.m}^{-3}$ (Astolfi et al. 2005). Según Peleg (1983) la mayoría de los polvos alimenticios están en el rango de 300 a 800 kg.m^{-3} . El análisis de varianza (ANOVA) reveló que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) para los factores pH ($p = 0.0146$), cantidad de zumo adicionado ($p = 0.0132$), el factor cuadrático pH ($p = 0.0041$), y las interacciones pH-sólidos solubles del zumo ($p = 0.0003$) y cantidad de zumo adicionado- sólidos solubles del zumo ($p = 0.0001$) (ver anexo K). En

la figura 9 se evidencia que a niveles bajos de sólidos solubles del zumo (50°Brix) y porcentaje de zumo adicionado (10%), se presentan los valores más altos de densidad aparente (680 Kg^m⁻³). Esto probablemente se deba a que al haber menos presencia de sólidos a encapsular la sacarosa cristalice mejor, siendo más compacta y formando caras más planas, obteniendo así un producto menos poroso (Astolfi 2003).

La interacción de los factores zumo adicionado- sólidos solubles del zumo concentrado de naranja agria se puede apreciar en la figura 9. A cantidades bajas de zumo adicionado (10%) un aumento de los sólidos solubles produce una disminución de la densidad del 10.4%; mientras que cuando el zumo de naranja agria adicionado es del 20% un aumento en los sólidos solubles causa un aumento del 12.2% en la densidad de los cocristales de zumo de naranja agria.

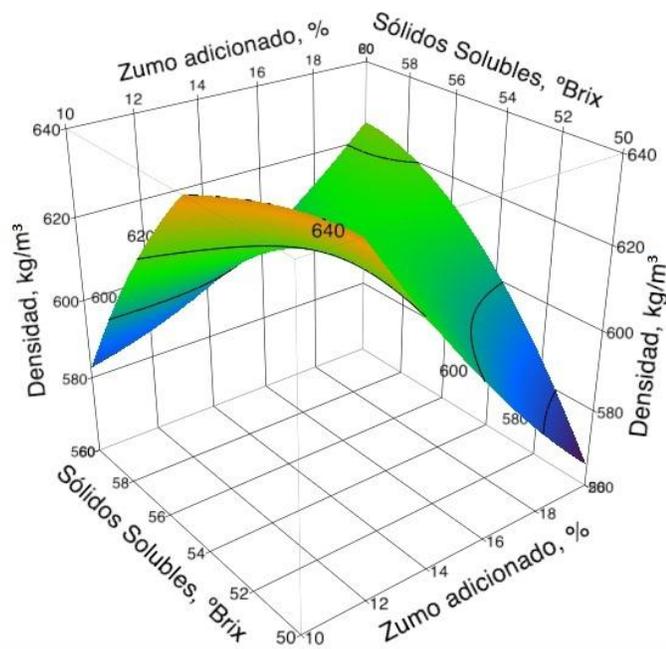


Figura 9. Gráfico de superficie de respuesta de la variable densidad aparente en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).

En la figura 10 se evidencia la interacción pH – sólidos solubles con respecto a la densidad aparente de los cocristales de naranja agria. En la medida que los sólidos solubles pasan de 50 a 60°Brix a niveles bajos de pH (3.8) la densidad aparente se reduce un 9.8%, no proporcional a lo proyectado a niveles altos de pH (4.5) en el cual la densidad aparente aumenta un 10.4%.

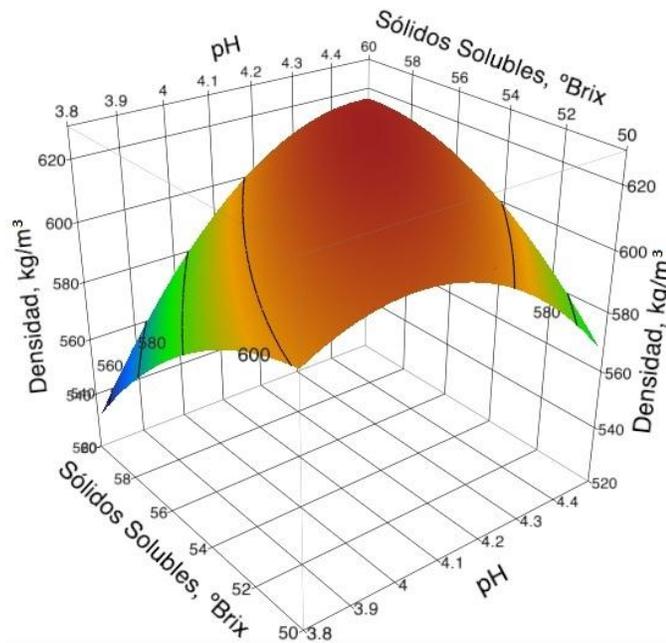


Figura 10. Gráfico de superficie de respuesta de la variable densidad aparente en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.

4.2.3. Ángulo de reposo

Los cocristales de naranja agria presentaron valores de ángulo de reposo de 34 - 45⁰, la gran mayoría fueron inferiores a 45⁰, lo cual indica que presentan propiedades de flujo libre sin problemas de cohesión (Bhandari et al. 1998). Según Chén (1988) el azúcar refinado comercial presenta un ángulo de reposo de 30 a 37⁰, los cuales al comparar con

los de los cocristales de naranja agria presentan valores semejantes, señalando que este parámetro se encuentra altamente influenciado por las características de flujo del material encapsulante. Por otra parte, estos resultados concuerdan con los valores reportados de 38.5 - 39.5⁰ para cocristales de miel de abeja (Bhandari et al. 1998), 29.9 ± 1.1⁰ para cocristales de jugo de maracuyá (Montes et al. 2006), y 40.4 - 43.2⁰ para cocristales del extracto de yerba mate (López et al. 2014). El ángulo de reposo mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) para los efectos cuadráticos sólidos solubles del zumo ($p = 0.029$), porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0085$), y la interacción sólidos solubles del zumo-porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0246$) (ver anexo L).

En la figura 11 se observa que a concentraciones bajas de sólidos solubles (50°Brix) el ángulo de reposo se reduce un 9.3%, cuando la concentración del zumo adicionado pasa de 10-20%, mientras a concentraciones altas de zumo de naranja agria (60°Brix) muestra un aumento de esta propiedad en aproximadamente un 10%. Este comportamiento del ángulo de reposo probablemente se encuentre relacionado con la humedad de los cocristales, la cual mostró la misma tendencia para la interacción zumo adicionado-sólidos solubles. Esto se puede sustentar bajo el hecho de que a mayor humedad probablemente exista un ensanchamiento en el área proyectada los cocristales, lo cual intensifica la fricción interna y a su vez el ángulo de reposo (Dursun y Dursun 2005). Por otra parte en la figura 12 se muestra el efecto cuadrático del zumo adicionado, en el cual se presenta un mínimo de ángulo de reposo cuando la cantidad de zumo adicionado se encuentra en aproximadamente un 15%.

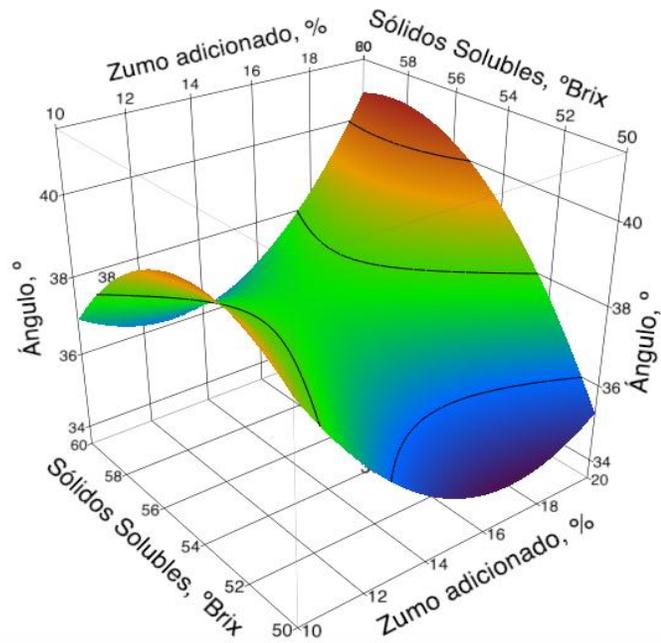


Figura 11. Gráfico de superficie de respuesta del ángulo de reposo en función de los sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).

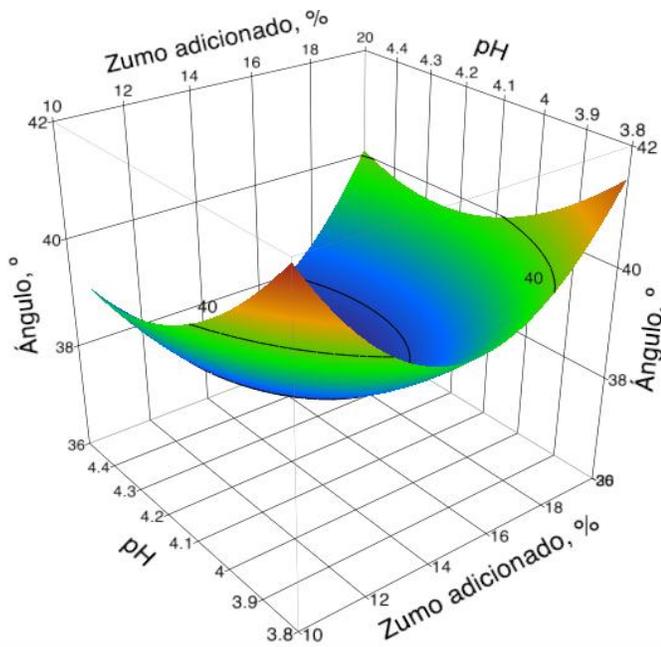


Figura 12. Gráfico de superficie de respuesta del ángulo de reposo en función del pH y zumo adicionado (%).

4.2.4. Tiempo de solubilización

El tiempo de solubilización de los cocristales de zumo de naranja agria se encuentra en el rango de 68 a 88 s. Estos valores concuerdan con los reportados para extracto de yerba mate 79 a 105 s (Deladino et al. 2007). Sin embargo son superiores a los de otros productos cocristalizados, tales como: jugo de maracuyá, 40 a 60 s (Astolfi et al. 2005; Montes et al. 2006), aceite de cascara de naranja 45 s (Beristain et al. 1994) y extracto de flor de Jamaica de 28.3 - 35 s (López et al. 2014). Estos resultados pueden atribuirse a que el material encapsulante presenta altos valores de solubilidad.

El ANOVA reveló diferencia significativa a nivel de confianza del 95% para el efecto cuadrático porcentaje de zumo adicionado ($p=0.0145$), las interacciones pH-porcentaje de zumo adicionado ($p=0.0438$) y sólidos solubles del zumo-porcentaje de zumo adicionado ($p=0.0065$) (ver anexo M). En la figura 13 se observa que a concentraciones bajas de sólidos solubles (50°Brix) el tiempo de solubilización se reduce un 17%, cuando la concentración del zumo adicionado pasa de 10-20%, mientras a concentraciones altas de zumo de naranja agria (60°Brix) muestra un aumento de esta propiedad en aproximadamente un 20%. Los valores altos del tiempo de solubilización probablemente se deban a la posible encapsulación ácido cítrico la cual posee baja solubilidad en agua (133 g/100 ml), aumentando este parámetro en la medida que aumentan los niveles de porcentajes de zumo adicionado y sólidos solubles.

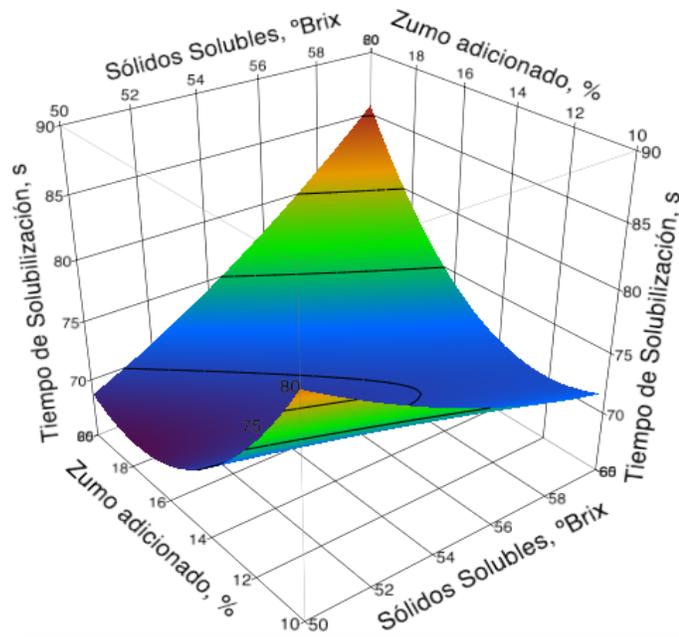


Figura 13. Gráfico de superficie de respuesta de la variable solubilidad en función de zumo adicionado (%) y sólidos solubles (°Brix).

En la figura 14 se manifiesta a 10% de zumo adicionado la predisposición de la solubilidad a aumentar (13.7%) cuando los niveles del pH pasan de 3.8 a 4.5; en tanto que a 20% de zumo adicionado la solubilidad disminuye (12.1%) cuando los niveles del pH van de 3.8 a 4.5. En general los valores de tiempo de solubilización de los cocrisales se encuentran dentro de un rango adecuado para productos granulares, lo cual se puede atribuir al hecho de que estos son sistemas de aglomerados porosos, en los cuales las soluciones acuosas pueden penetrar y liberar el compuesto activo para su disolución (Chén et al. 1988).

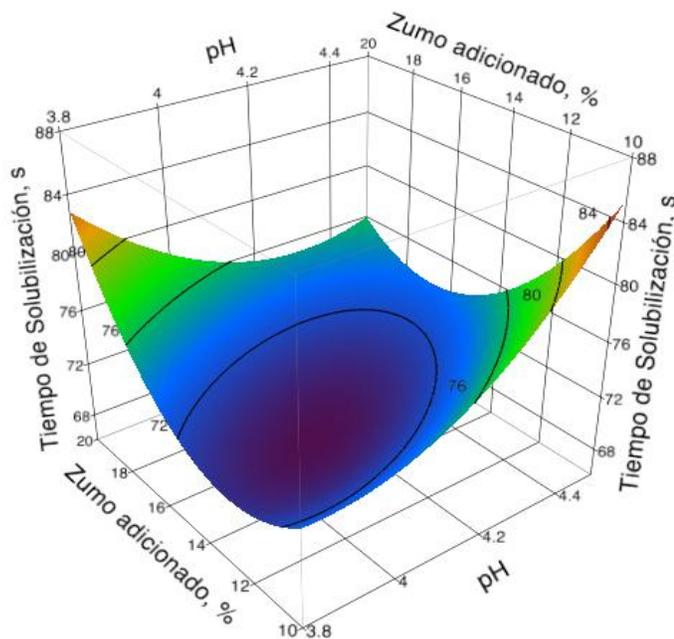


Figura 14. Gráfico de superficie de respuesta de la variable solubilidad en función de zumo adicionado (%) y pH.

4.2.5. Humedad

La humedad de los cocrisales se encuentra en el rango 19.7 a 45.7 gKg⁻¹. Esta tendencia concuerda con los datos reportados para cocrisales de extracto de flor de jamaica 33.4 a 56.7 gKg⁻¹ (Beristain et al. 1994) y jugo de maracuyá 32.1 a 53.1 gKg⁻¹ (Montes et al. 2006). Esto probablemente se deba a que a niveles altos de pH existe mayor concentración de Hidróxido de Calcio en el zumo (0.8%, 1.2% y 1.6% para pH 3.8, 4.15 y 4.5 respectivamente) lo cual provoca el aumento de los sólidos totales. La humedad presentó diferencia significativa (p<0.05) para los factores pH (p=0.001), sólidos solubles del zumo (p=0.0042), el factor cuadrático sólidos solubles del zumo (p=0.001), y la interacción sólidos solubles del zumo-porcentaje de zumo adicionado (p=0.001) (ver

anexo N). En la figura 15 se observa una reducción en los valores de humedad (48.5%) a medida que el pH aumenta (3.7 a 4.5).

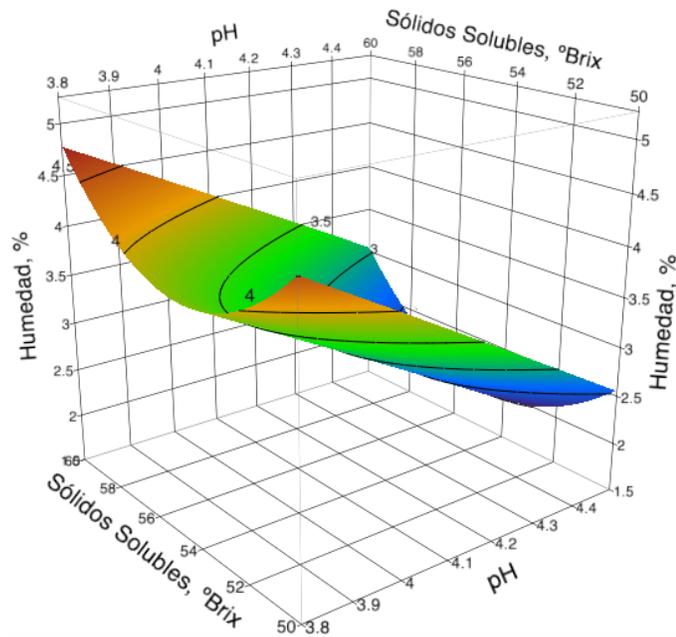


Figura 15. Gráfico de superficie de respuesta de la variable humedad en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.

En la figura 16 se observa la interacción que existe entre los factores sólidos solubles - zumo adicionado. A concentraciones bajas de sólidos solubles (50°Brix) la humedad se reduce (22.6%), cuando el porcentaje de zumo adicionado pasa de 10-20%, lo cual puede estar relacionado con que a bajos contenidos de sólidos solubles se favorece la interacción molecular de los puentes hidrogeno y de paso la retención de humedad. Sin embargo, a concentraciones altas de sólidos solubles (60°Brix) la humedad aumenta (25%) en la medida que el porcentaje de zumo adicionado aumenta.

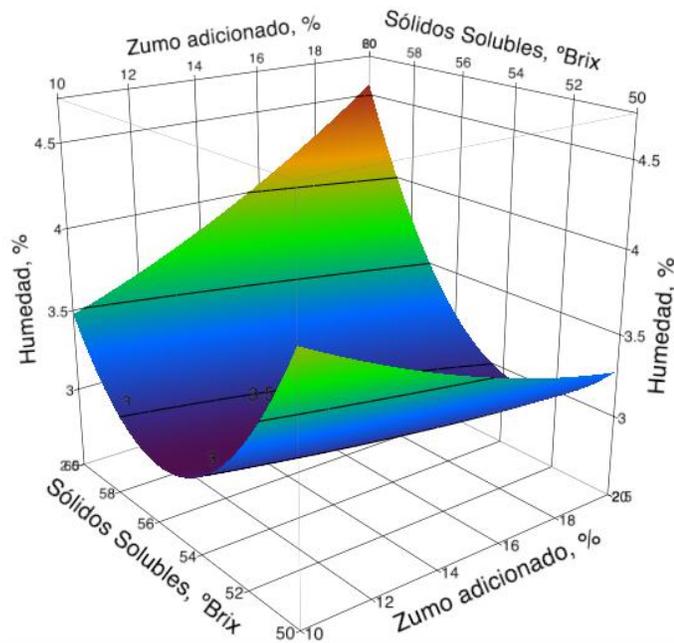


Figura 16. Gráfico de superficie de respuesta de la variable humedad en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).

4.2.6. Actividad del agua.

Los valores de actividad de agua (a_w) estuvieron comprendidos entre 0.508 y 0.798, semejantes a los reportados para pulpa de mora cocrystalizada, 0.50 a 0.74 (De Souza 2012), pero superiores para sacarosa (0.463) y extracto de yerba mate cocrystalizado, 0.460 (Deladino et al. 2007), lo cual se debe a los altos contenidos de humedad que presentaron los cocrystalos de zumo de naranja agria. Estos valores de a_w son superiores a 0.47, lo que probablemente le ocasionara problemas de apelmazamiento y de seguridad microbiológica (Deladino et al., 2007). El análisis de varianza exhibió diferencia significativa ($p < 0.05$) para el factor porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0012$), el factor cuadrático sólidos solubles del zumo ($p = 0.0007$), y la interacción pH-porcentaje de

zumo adicionado ($p=0.0253$) (ver anexo O). En la figura 17 se observa la tendencia de la actividad de agua a disminuir ($\sim 14\%$) a medida que la proporción de zumo adicionado aumenta. Es de tener en cuenta que al someter el jarabe de sacarosa a altas temperaturas y tiempos prolongados, la sacarosa tiende a invertirse en dextrosa y fructosa, las cuales promueven una mayor higroscopicidad en los cocristales debido a su posible encapsulación. Esta velocidad de inversión probablemente se vea reducida debido a que al momento de mezclar del jarabe de sacarosa con el zumo concentrado, se sobresature el sistema por las altas concentraciones de azúcares (Mendes et al. 2003).

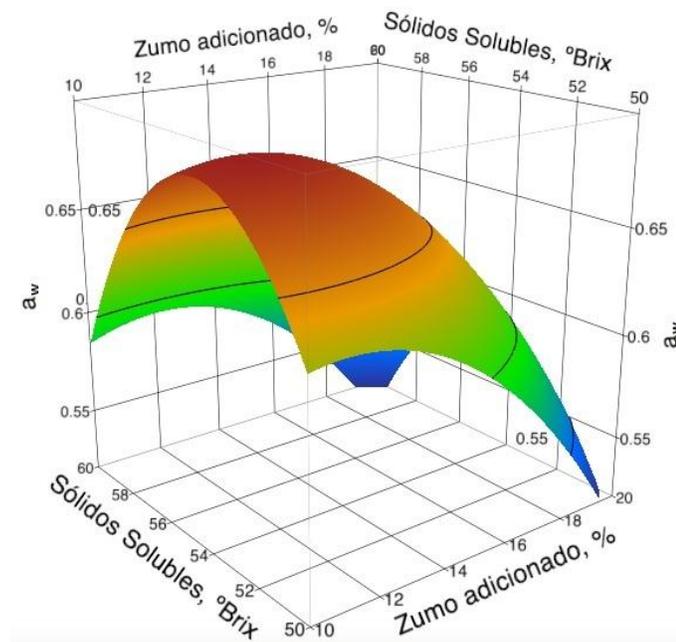


Figura 17. Gráfico de superficie de respuesta de la variable actividad de agua en función de sólidos solubles (°Brix) y zumo adicionado (%).

En la figura 18 se puede apreciar la interacción que existe entre los factores zumo adicionado- pH. A porcentajes bajos de zumo adicionado (10%) un aumento en el pH

ocasiona un aumento de la a_w de un 13.5%, mientras que cuando se adiciona un 20% de zumo de naranja el aumento del pH causa una disminución del 13.7% en la a_w .

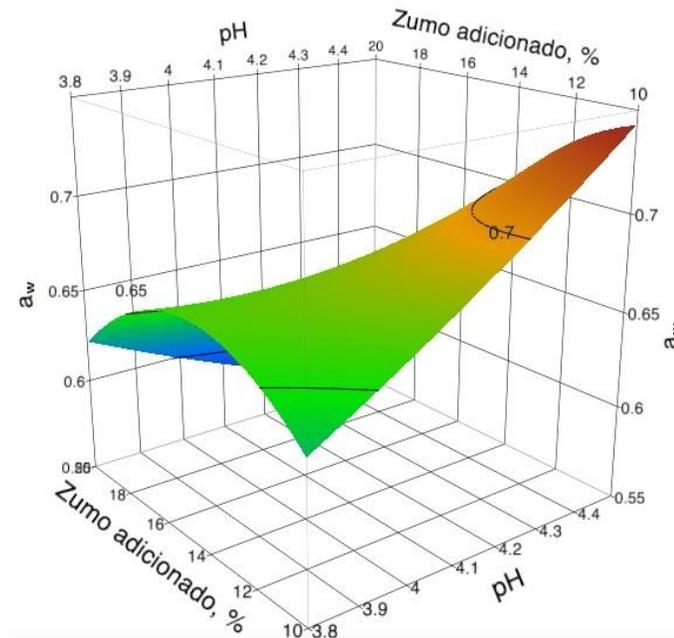


Figura 18. Gráfico de superficie de respuesta de la variable actividad de agua en función de zumo adicionado (%) y pH.

4.2.7. Color.

La luminosidad (parámetro L^*) mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al factor pH ($p = 0.0006$) y el factor cuadrático porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0405$) (ver anexo P). En la figura 19 se evidencia que a medida que el pH aumenta de 3.8 a 4.5 la luminosidad de los cocristales de zumo de naranja agria aumenta, siendo éste cambio del 23%. Esto probablemente se deba a la encapsulación del hidróxido de calcio (compuesto de color blanco) con el cual se ajustó el pH, siendo mayor su proporción en los cocristales en la medida que aumentan los niveles de pH. Cabe destacar que valores

que los valores de L^* cercanos a cero indican un color negro y a 100 indican una luminosidad blanca. De acuerdo a Jacho y Vásquez (2011) la adición de Hidróxido de Calcio en el jugo de sábila y naranja tiene una relación directa sobre la luminosidad del jugo. López et al. (2014) reportaron que en cocristales del extracto de yerba mate se presenta una tendencia cuadrática de la luminosidad (L^*) en función del porcentaje de extracto adicionado 3, 5 y 10%, siendo estos valores de 55.3, 64.4 y 55.9, respectivamente.

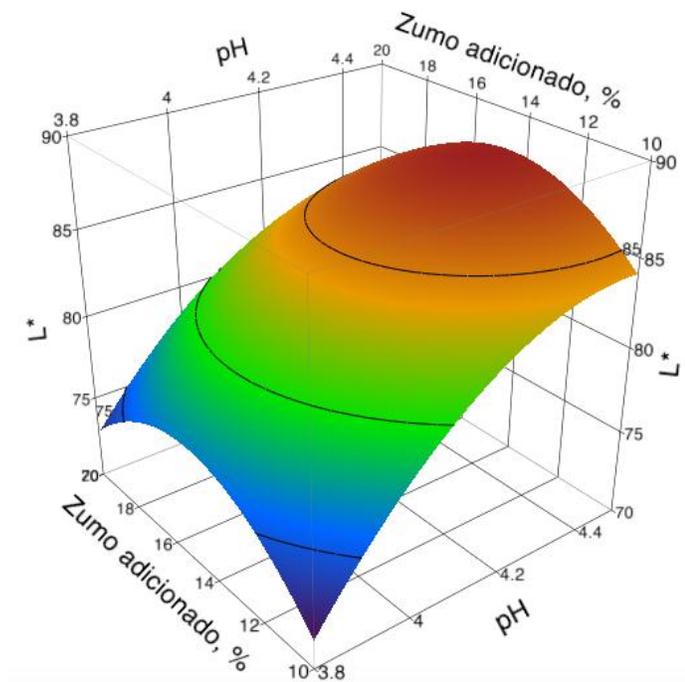


Figura 19. Gráfico de superficie de respuesta de la variable luminosidad (L^*) en función del zumo adicionado (%) y pH.

La cromaticidad verde (-) roja (+) se vio influenciada significativamente ($p < 0.05$) con los factores: pH ($p = 0.0001$) y porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0303$), los factores cuadráticos pH ($p = 0.0037$), y sólidos solubles del zumo ($p = 0.0093$), y la interacción

sólidos solubles del zumo- porcentaje de zumo adicionado ($p=0.0027$) (ver anexo Q). En la figura 20 se observa que a medida que el pH aumenta el parámetro a^* disminuye, siendo ésta reducción del 77.9%. Esto probablemente se deba que a pH más ácidos la presencia ácido ascórbico posee mayor una disponibilidad para reaccionar con los componentes responsables del color dando como resultado un desplazamiento inicial de a^* hacia el interior del área de los grises (Martínez et al. 2011).

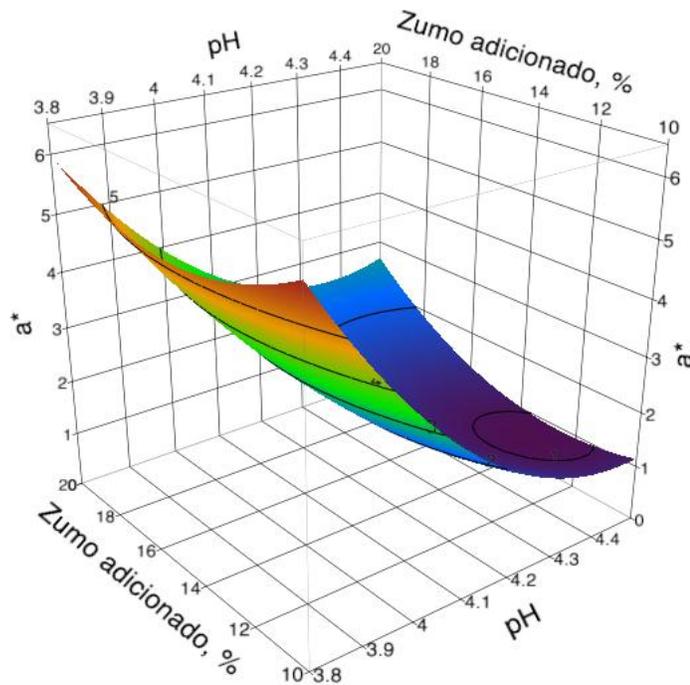


Figura 20. Gráficos de superficie de respuesta del parámetro de color a^* en función de zumo adicionado (%) y pH.

El efecto de la interacción concentración del zumo-porcentaje de zumo adicionado, se puede apreciar en la figura 21. Cuando los sólidos solubles del zumo concentrado es de 50°Brix, el parámetro a^* disminuye aproximadamente un 72% con el aumento del zumo

de naranja agria adicionado (10 a 20%); mientras que a 60°Brix el parametro a^* aumenta aproximadamente un 114% con el mismo aumento del zumo adicionado. Manayay et al. (2013) observaron una disminución permanente del color y el croma con respecto a las variables temperatura y tiempo en la pulpa de mango (16 y 28°Brix).

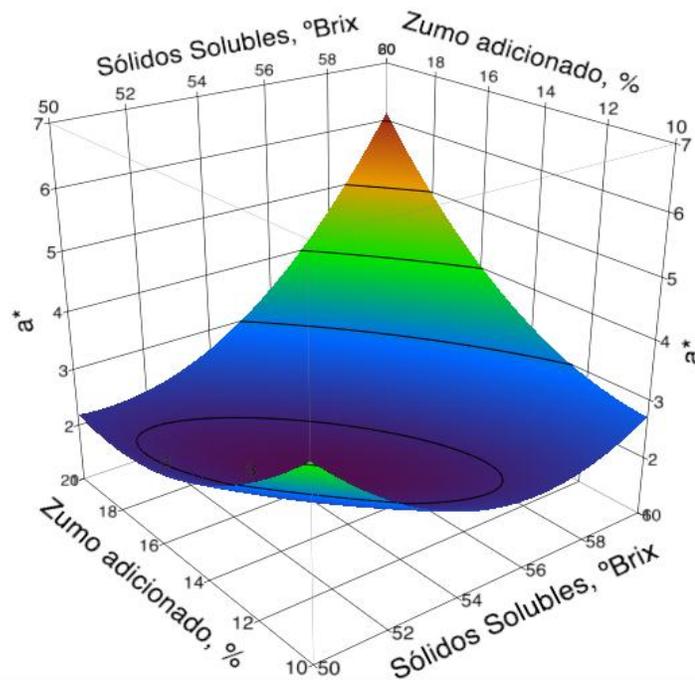


Figura 21. Gráficos de superficie de respuesta del parámetro de color a^* en función de zumo adicionado (%) y sólidos solubles (°Brix).

La cromaticidad amarilla (+) azul (-) presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al factor pH ($p = 0.0384$), el factor cuadrático sólidos solubles del zumo ($p = 0.0158$), y la interacción pH-porcentaje de zumo adicionado ($p = 0.0053$) (ver anexo R). En las figuras 22 y 23 se observa la tendencia de b^* hacia un espectro menos amarillo cuando los valores del pH aumentan. Esto probablemente se deba a la relación

obtenida entre la humedad y el pH de los cocristales del zumo de naranja; ya que Sian et al. (1991) en sus estudios sobre la estabilidad de los carotenoides durante el escaldado y secado de papaya y piña remojadas en solución de glicerol al 0.15 y 20%, encontraron que las muestras remojadas a altas concentraciones de glicerol presentaban mayores valores de humedad después del secado, lo cual les brindaba una mayor estabilidad a los carotenoides con respecto a los procesos térmicos.

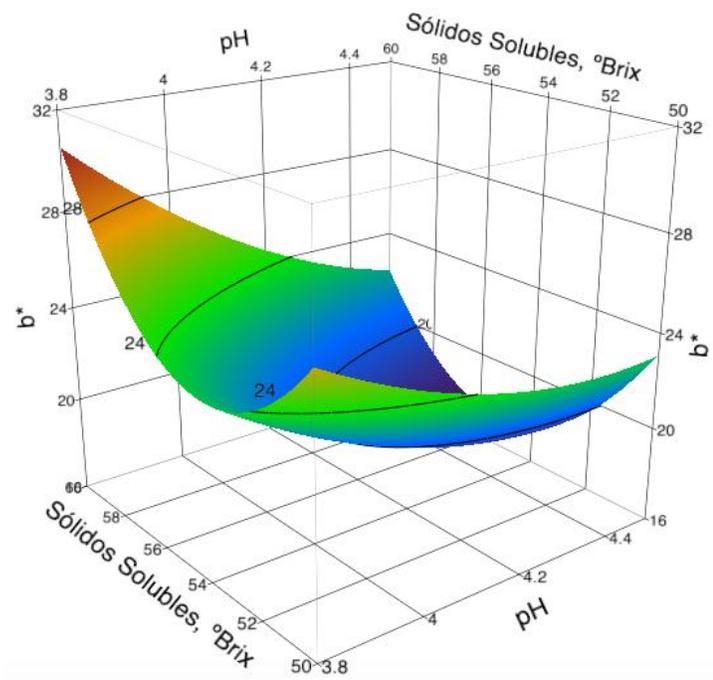


Figura 22. Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color b^* en función de sólidos solubles (°Brix) y pH.

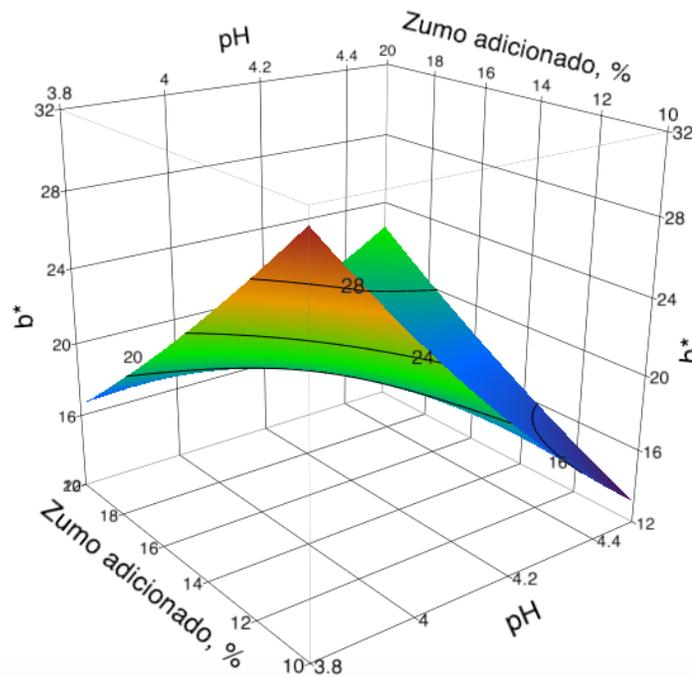


Figura 23. Gráfico de superficie de respuesta del parámetro de color b^* en función de zumo adicionado (%) y pH.

4.2.8. Vitamina C.

El contenido de vitamina C mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al factor lineal ($p = 0.0002$) y cuadrático ($p = 0.0028$) del porcentaje de zumo adicionado y la interacción pH - zumo adicionado ($p = 0.0466$) (ver anexo S). Los cocristales lograron retener vitamina C entre un 3.94 y 5.25 mg/100 g (base seca), lo cual concuerda con los datos reportados para zumo de limón cocristalizado de 4.97 - 6.52 mg/100 g en base seca (Astolfi 2003) y jugo de maracuyá cocristalizado de 5.39 mg/100 g en base seca (Montes et al. 2006). Sin embargo, se presentó una alta pérdida de vitamina C (90.64%) durante el proceso de cocristalización con respecto al zumo fresco. Esta reducción puede estar asociada al momento que la sacarosa se incorpora en la matriz, lo cual causa un efecto

de dilución de la vitamina C. A esto se le suma el efecto combinado de la agitación, la temperatura (45°C) y la exposición a la luz durante su procesamiento para su concentración.

En la figura 24, se observa la tendencia de aumento del contenido de vitamina C (24.25%) en la medida que los niveles del factor zumo adicionado pasa de 10-20%. Este incremento puede estar asociado con el aumento de la concentración de vitamina C sobre la materia seca, por efecto de la adición del jugo teniendo en cuenta las proporciones propuestas. De igual forma la cantidad de zumo concentrado añadido probablemente minimizó el impacto combinado de la agitación y la temperatura, en la degradación de la vitamina C durante el proceso de concentración, cocrystalización y secado (Astolfi 2003). Cabe destacar que existe un máximo en el punto 19.4% de zumo adicionado (cerca del 20%), en la cual el contenido de vitamina C es de 6.12 mg/100g (base seca).

Por otra parte, se pudo observar que los sólidos solubles no influyeron sobre el contenido de vitamina C. Esto puede estar relacionado con el proceso de concentración del jugo, ya que éste se daba a temperatura constante de 45°C durante periodos de 3-4 horas donde probablemente existía pérdida de vitamina C. Castillo y Miranda (1995) evaluaron la cinética de degradación de la vitamina C en jugo de maracuyá, observando una disminución del 55% al ser sometido a temperatura de 40°C durante 250 min.

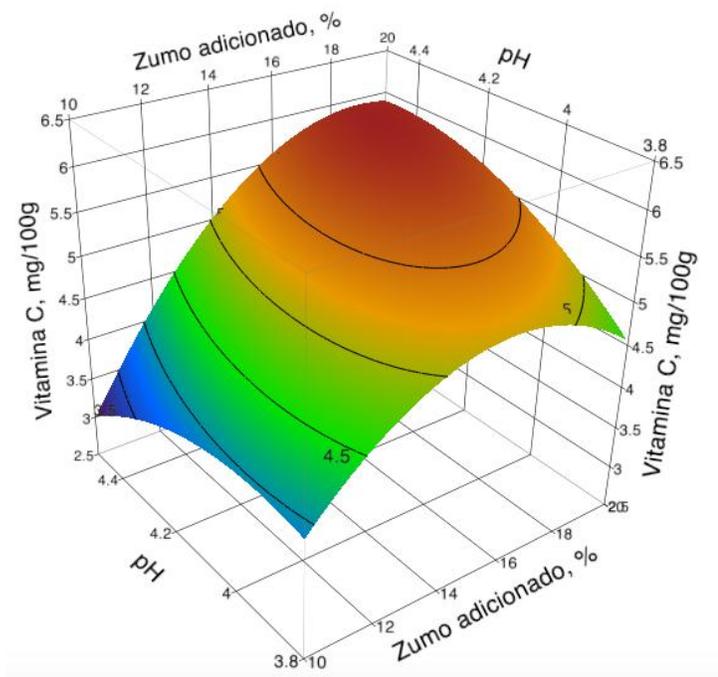


Figura 24. Gráfico de superficie de respuesta del contenido de vitamina C en función del pH y zumo adicionado (%).

5. CONCLUSIONES

La cocrystalización del zumo de naranja agria constituye una alternativa prometedora como fuente importante de ingredientes activos, como contenido de vitamina C. Los cocrystalales de zumo de naranja agria mostraron características deseables para un producto en polvo tales como: alta solubilidad, buena fluidez y color. Sin embargo, presentan alta humedad y actividad de agua.

La cantidad de zumo de naranja agria adicionada debe ser lo mas alta posible para garantizar que los cocrystalales del producto tengan altas concentraciones Vitamina C y bajos contenido de humedad, actividad de agua y tiempo de solubilidad (a bajos sólidos solubles). Sin embargo, esto ocasiona altos tiempos de cocrystalización.

El pH del zumo de naranja agria concentrado debe estar en los niveles altos (4.5) para que los cocrystalales tengan bajos contenidos de humedad y altas concentraciones de Vitamina C, sin embargo a estos pH se obtienen altos tiempos de cocrystalización.

Finalmente, el contenido de sólidos solubles no afecta el contenido de Vitamina C de los cocrisales de zumo de naranja agria, pero este parámetro se debe mantener en los niveles bajos que garantice un producto con bajos contenidos de humedad, tiempo de solubilidad y de cocrystalización.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar al producto final un análisis de microscopía óptica de luz polarizada, ya que permitiría determinar los tratamientos que tienen una encapsulación más eficiente.

- ✓ Evaluar la cinética de degradación del contenido de vitamina C en el producto final para determinar su degradación bajo almacenamiento, y analizar sensorialmente los cocristales de zumo de naranja agria.

- ✓ Evaluar el proceso de agitación, para determinar cómo la velocidad y el tiempo sobre la eficiencia de la cocrystalización.

7. BIBLIOGRAFIA

Alonso, J. 2004. Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos. Editorial Corpus, Rosario-Argentina.p129-131.

Araneda, C. Valenzuela, F.2009. Microencapsulación de extractantes: una metodología alternativa de extracción de metales. Revista Ciencia Ahora 22(11): 9-19.

Astolfi, Z. 2003. Encapsulação de sucos de frutas por co-cristalização com sacarose. Tesis de ingeniero químico. Universidad estatal Paulista. Juio de Mesquitafilho. Campus São José do Rio Preto.

Astolfi, Z. Souza, A. Reipert, É. Telis, V. 2005. Encapsulação de suco de maracujá por co-cristalização com sacarose: cinética de cristalização e propriedades físicas. Ciencia y Tecnologia de alimentos, Campinas 25(4): 795-801.

Astray, G. Mejuto, J. Rial, R. González, C. y Simal, J. 2009. A review on the use of cyclodextrins in foods. Food Hydrocolloids 23(7): 1631-1640.

Badui, S.2006. Química de los alimentos, 4^{ta} edición, Pearson educación, México, p32-40.

Baron, R. Villa, A. 2013. Evolución de los parámetros de calidad de naranja valencia producida en el municipio de Chimichagua, Cesar – Colombia. Revista Temas Agrarios 18(1): 66-74.

Beristain, C. Mendoza, R. Vazquez, A. 1994. Cocrystallization of Jamaica (*Hibiscus sabdarifa L.*) granules. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technolgie 27: 347-349.

Beristain, C. Vazquez, A. Garcia, H. y Vernon-Carter, E. 1996. Encapsulation of orange peel oil by co-crystallization. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technolgie 29:645-647.

Bhandari, B. Datta, N. D'arcy, B. y Rintoul, G. 1998. Co-crystallization of honey with sucrose. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technolgie 31:138-142.

Bolívar, M. Galetovic, A. Jana, Á. Jiménez, S. Muchnik, E. Rojas, P. Venturelli, A. 2005. El libro blanco del azúcar, una historia de proteccionismo, RIL editores, Chile, p37-52.

Caballero, C. 2005. Desamargado enzimático de zumo de naranja agria, Ingeniero de Alimentos, Universidad de Córdoba, Montería, sede Berastegui.

Castillo, P. Miranda, L. 1995. Cinética de degradación de la vitamina C en el jugo concentrado y congelado de maracuyá. Tesis Tecnólogo en Alimentos, Universidad de Campinas, Sao Paulo.

Chén, A. Veiga, M y Rizzuto, A. 1988. Co-crystallization and encapsulation process. Food Technology 44:87-90.

Constant, P. Stringheta, P.2002.Microencapsulação de ingredientes alimentícios. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos 36(1):12-18.

Davila, J. 2004. Estudio experimental del efecto de la porosidad de partícula sobre el proceso de secado en un lecho fluidizado a vacío empleando aire. Tesis de licenciatura. Ingeniería mecánica. Universidad de las Américas, Puebla.

Daub, G. Seese, W.2005. Química, 8ª edición, Pearson, México, p212-214.

De Souza, A. 2012. Análise microestrutural da polpa de amora-preta (*Rubus spp.*) co-cristalizada por sacarose. Tesis de Mestre em engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Deladino, L. Anbinder, P. Navarro, A. Martino, M. 2007. Co-crystallization of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) and mineral salts within a sucrose matrix. Journal of Food Engineering 80(07):573-580.

Desai, K.Park, H.2005.Recent developments in microencapsulation of food ingredients.Drying Technology 23(7):1361-1394.

Domínguez, F. Díaz, T.2003.Agotamiento de mieles en la industria azucarera (en línea).Universidad de Matanzas, www.bibliociencias.cu Acceso: 27 de Octubre (2015).

Dursun, I. Dursun, E. 2005. Some physical properties of caper seed. Biosystems Engineering 86(2):172-177.

Dziezak, J. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Journal of Food Technology* 42(151):136-148.

Fabra, M. Hambleton, P. Talens, F. Debeaufort yVoilley,A.2009. Influence of interactions on water and aroma permeabilities of i-carrageenan–oleic acid–beeswax films used for flavour encapsulation. *Carbohydrate Polymers* 76(2):325-332.

Fennema, O. Parkin, L. Damodaram, S.2010. *Química de los alimentos*, Editorial Acribia S.A., España, p210-212.

Fuchs, M. Turchiuli, M. Bohin, M. Cuvelier, C. Ordonnaud, P. Dumoulin,E.2006. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering* 75(1):27-35.

Garau, C, Silma, S. Roselló, C. Femenia, A. 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chemistry*. 104(3):1014-1024.

Geary, P.2008. The co-crystallisation of sugars by the supersaturation process. Thesis for the Doctor of Philosophy, University of Hull, Reino Unido.

Jacho, A. Vásquez C.2011. Efecto de una pectinase e hidróxido de calcio en las características físico-químicas y sensoriales de jugo de sábila con naranja. Tesis para Ingeniero en agroindustria alimentaria, Universidad de Zamorano, Honduras.

Jackson, L.S. Lee, K.1991. Microencapsulation in the food industry. *LWT-Food Science and Technology* 24(16): 289–297.

Jayasankar, A. 2008. Understanding the mechanisms, thermodynamics and kinetics of cocrystallization to control phase transformations. Thesis of the Doctor of Philosophy, University of Michigan, E.E.U.U.

Karoui, I. Marzouk, B. 2009. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity in the peel and sour orange juice (*Citrus aurantium L.*) BioMed Research International 36(9):72-87.

Khachik, F.Goli, G. Beecher, G. Holden, J. Lusby, W. Tenorio, M. Barrera, M. 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. Journal of agricultural and food chemistry 40: 390-398.

King, A.1995. Encapsulation of food ingredients. In: Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients, ed. Risch, S.J. e Reineccius, G.A. ACS Symposium Series, Washington D.C. p26-39.

Lakis, J. 2007. Encapsulation and controlled release technologies in food systems. Blackwell Publishing Iowa, EE. UU: p1-8.

Larroza, I. Zerlotti, A. 2007. Encapsulation of Lycopene using spray-drying and molecular inclusion processes. Brazilian Archives of Biology and Technology 50(5):893-900.

Lee, H. Coates, G. 2003. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. Lebensmittel wissenschaft und technologie 36:153-156.

Lee, K. Ulrich, G. 2009. Formation of crystalline coatings by solution crystallization. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle, Germany.

Lee, J. Thomas, L. Jerrell, J. Feng, H. Cadwallader, K. Schmidt, S.2011. Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline. Journal of Agricultural and Food chemistry 59:702-712.

López, A. Deladino, L. Agudelo, L. Martino, M. 2014. Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: stability during storage. Journal of food engineering 124: 158-165.

Martínez, J. Gómez, C. Villarino, M. 2006. Obesidad y alimentos funcionales: ¿son eficaces los nuevos ingredientes y productos? Revista de medicina 50(4):31-38.

Martínez, J. Rojas, H. Borda, G. Hastamorir, A. Medina, M.2011. Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* SW). Revista facultad nacional de agronomía 64(1):06-11.

Manayay, D. Ibarz, A. Castillo, W. Palacios, L. 2013. Cinética de la diferencia de color y croma en el proceso térmico de pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Haden. Scientia Agropecuaria (4):181-190.

Mathlouthi, M. Reiser, P.1995. Sucrose, properties and applications, Springer science business media, Paris, p105-112.

Melendez, A. Vicario, I. Heredia, F. 2007. Analysis of caroteoids in orange juice. Journal of Food Composition and Analysis 20: 638-649.

Mendes, A. Fernao, D. Madeira, L. 2003. Sucrose inversion: an experiment on heterogeneous catalysis. *International Journal of Engineering education* 19(6):893-901.

Montes, E. De Paula, C. Ortega, F. 2006. Encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*). *Revista Temas Agrarios* 12(1):5-12.

Morissette, S. Almarsson, O. Peterson, M. Remenar, J. Read, M. Lemmo, A. Ellis, S. Cima, M. Garner, C. 2004. High-throughput crystallization: Polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. *Journal of Advanced drug delivery reviews* (56):275-300.

Odriozola, I. 2009. Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos. Trabajo de investigación (Doctorado) Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Facultad de Ingeniería. Madrid. 117.

Pamplona, R. 2006. Salud por los alimentos. Editorial Safeliz., Madrid, p128-346.

Parra, R. 2010. Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía.* 60(2):5673-5674.

Peleg, M. 1983. Physical Properties of Foods. Physical characteristics of Foods powders. AVI Publishing Co. Westport. p239-323.

Peterson, M. Johnson, A. 1978. Microencapsulation. AVI Publishing Co: Westport, CT: 499-507.

Ré, M. 2000. Microencapsulação: Em busca de produtos inteligentes. *Revista Ciência.* 27(162):24-29.

Santos, A. Ferreira, V. Grosso, C. 2000. Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de Produtos Sensíveis à Oxidação Óleo Resina de Páprica. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. 3(16):26-30.

Shahidi, F. Han, X. 1993. Encapsulation of food ingredients. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 33(6):501-547.

Soleha, I. Sian, K. Embong, S. 1991. Maintaining the storage quality of tropical dried fruit mix with glycerol. Journal of Food Quality. 14(3):219-228.

Quintana, P. Moncada, D. Bolaños, E. Salcedo, L. 2005. Evaluación del crecimiento de cristales de azúcar y determinación del factor de forma de área superficie. Revista Mexicana de Ingeniería Química 4(1):123-129.

Varzakas, T. Constantina, T. 2015. Handbook Food Processing: Food Safety, Quality and Manufacturing Processes. p368-369.

Vilstrup, P. 2004. Microencapsulation of Food Ingredients. Ed. Leatherhead International Limited, Surrey, UK. p1-47.

Yañez, J. Salazar, L. Chaires, J. Jimenez, Marquez, M. y Ramos, E. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Revista Avance y Perspectiva. 21(8):313-319.

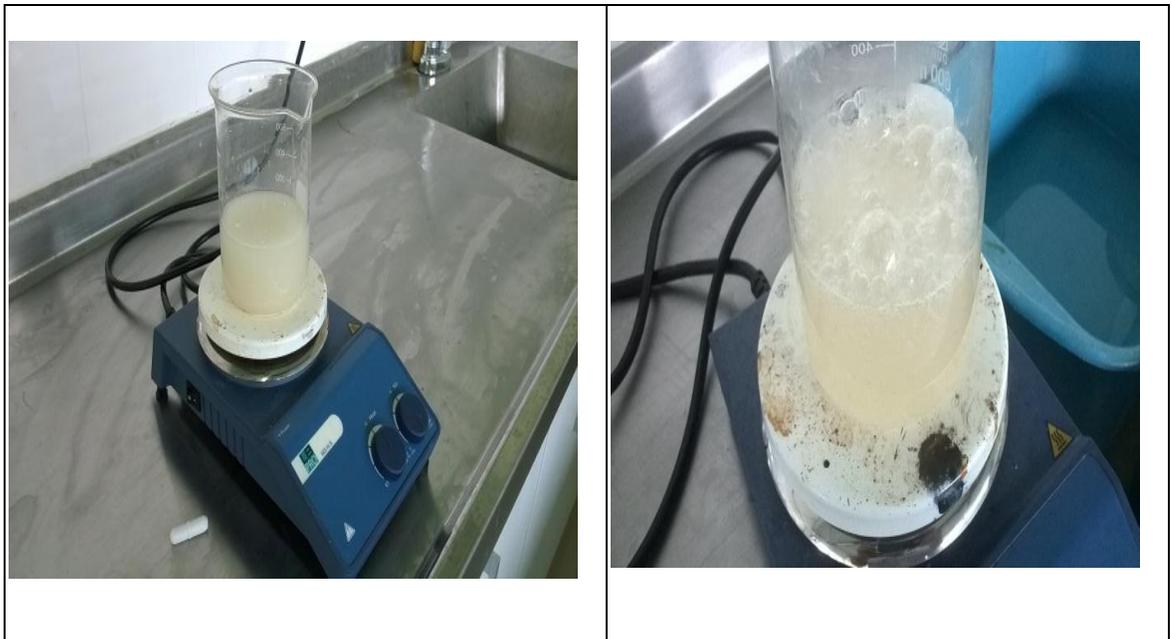
Yujing, S. Yan, S. Donghong, L. Xingqian, Y. 2014. Effects of drying methods on phytochemical compounds and antioxidant activity of physiologically dropped un-matured citrus fruits. LWT - Food Science and Technology. 60(2):1269-1275.

8. ANEXOS

Anexo A. Estado de maduración de las naranjas a menos de 700 metros sobre el nivel del mar.



Anexo B. Montaje para la obtención el jarabe sobresaturado de sacarosa



Anexo C. Montaje para la cocrystalización del zumo de naranja agria concentrado



Anexo D. Separación del material particulado



Anexo E. Muestras cocrystalizadas secadas al vacío.



Anexo F. Cribado de las muestras molturadas



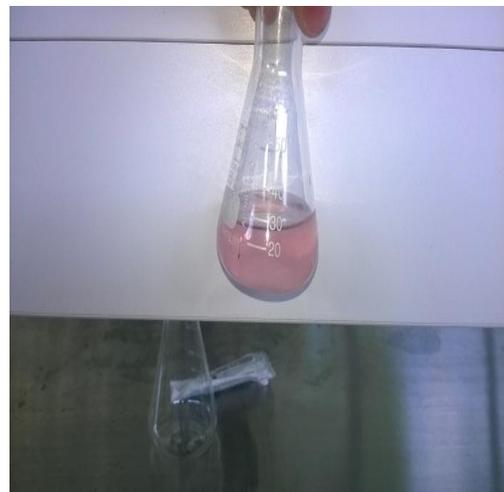
Anexo G. Montaje para la determinación del ángulo de reposo



Anexo H. Determinación de la solubilidad



Anexo I. determinación de vitamina C.



Anexo J. Efectos estimados paratiempo de cocrystalización.

Response Tiempo				
Whole Model				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	1833.6667	33.05056	55.48	<.0001*
pH(3.8,4.5)	153.875	20.23925	7.60	<.0001*
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	328.4375	20.23925	16.23	<.0001*
Zumo adicionado, %(10,20)	590.8125	20.23925	29.19	<.0001*
pH*Sólidos Solubles, °Brix	5	28.62262	0.17	0.8631
pH*Zumo adicionado, %	35.5	28.62262	1.24	0.2292
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	-13.875	28.62262	-0.48	0.6331
pH*pH	-107.1458	29.79137	-3.60	0.0018*
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-40.02083	29.79137	-1.34	0.1942
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	16.729167	29.79137	0.56	0.5807

Anexo K. Efectos estimados paradensidad aparente.

Response Densidad, kg/m				
Whole Model				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	615.11667	7.911911	77.75	<.0001*
pH(3.8,4.5)	12.95	4.845036	2.67	0.0146*
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	-4.81875	4.845036	-0.99	0.3318
Zumo adicionado, %(10,20)	-13.18125	4.845036	-2.72	0.0132*
pH*Sólidos Solubles, °Brix	30.025	6.851916	4.38	0.0003*
pH*Zumo adicionado, %	-10.075	6.851916	-1.47	0.1570
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	34.5125	6.851916	5.04	<.0001*
pH*pH	-23.12708	7.1317	-3.24	0.0041*
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-13.36458	7.1317	-1.87	0.0756
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	6.6104167	7.1317	0.93	0.3650

Anexo L. Efectos estimados para ángulo de reposo.

Response Angulo, °				
Whole Model				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	37.48	0.876723	42.75	<.0001*
pH(3.8,4.5)	-0.9675	0.536881	-1.80	0.0866
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	0.861875	0.536881	1.61	0.1241
Zumo adicionado, %(10,20)	0.059375	0.536881	0.11	0.9130
pH*Sólidos Solubles, °Brix	-0.5975	0.759264	-0.79	0.4405
pH*Zumo adicionado, %	0.2675	0.759264	0.35	0.7283
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	1.84625	0.759264	2.43	0.0246*
pH*pH	0.969375	0.790268	1.23	0.2342
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-1.859375	0.790268	-2.35	0.0290*
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	2.305625	0.790268	2.92	0.0085*

Anexo M. Efectos estimados para solubilidad.

Response Solubilidad, s				
Whole Model				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	69.5	2.615658	26.57	<.0001*
pH(3.8,4.5)	1.375	1.601757	0.86	0.4008
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	1.625	1.601757	1.01	0.3225
Zumo adicionado, %(10,20)	0.125	1.601757	0.08	0.9386
pH*Sólidos Solubles, °Brix	1.875	2.265226	0.83	0.4176
pH*Zumo adicionado, %	-4.875	2.265226	-2.15	0.0438*
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	6.875	2.265226	3.04	0.0065*
pH*pH	3.5625	2.357722	1.51	0.1464
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	1.3125	2.357722	0.56	0.5839
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	6.3125	2.357722	2.68	0.0145*

Anexo N. Efectos estimados parahumedad.

Response Humedad, %					
Whole Model					
Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	2.8817	0.099267	29.03	<.0001*	
pH(3.8,4.5)	-0.922863	0.060788	-15.18	<.0001*	
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	0.1961438	0.060788	3.23	0.0042*	
Zumo adicionado, %(10,20)	0.0942687	0.060788	1.55	0.1366	
pH*Sólidos Solubles, °Brix	0.0582625	0.085967	0.68	0.5057	
pH*Zumo adicionado, %	0.0384875	0.085967	0.45	0.6592	
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	0.4512	0.085967	5.25	<.0001*	
pH*pH	-0.0097	0.089478	-0.11	0.9148	
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	0.8568625	0.089478	9.58	<.0001*	
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	0.0897375	0.089478	1.00	0.3279	

Anexo O. Efectos estimado paraactividad de agua.

Response Aw					
Whole Model					
Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	0.6703333	0.021726	30.85	<.0001*	
pH(3.8,4.5)	0.011	0.013304	0.83	0.4181	
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	-0.012375	0.013304	-0.93	0.3634	
Zumo adicionado, %(10,20)	-0.050125	0.013304	-3.77	0.0012*	
pH*Sólidos Solubles, °Brix	0.037	0.018815	1.97	0.0633	
pH*Zumo adicionado, %	-0.0455	0.018815	-2.42	0.0253*	
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	0.00875	0.018815	0.47	0.6469	
pH*pH	0.0039583	0.019583	0.20	0.8419	
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-0.078292	0.019583	-4.00	0.0007*	
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	-0.037542	0.019583	-1.92	0.0696	

Anexo P. Efectos estimados para luminosidad (L*)

Response L					
Whole Model					
Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	85.713333	2.236099	38.33	<.0001*	
pH(3.8,4.5)	5.615625	1.369325	4.10	0.0006*	
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	-0.141875	1.369325	-0.10	0.9185	
Zumo adicionado, %(10,20)	-0.02375	1.369325	-0.02	0.9863	
pH*Sólidos Solubles, °Brix	0.2075	1.936519	0.11	0.9157	
pH*Zumo adicionado, %	-0.61125	1.936519	-0.32	0.7555	
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	-2.61375	1.936519	-1.35	0.1922	
pH*pH	-3.429167	2.015592	-1.70	0.1044	
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-3.266667	2.015592	-1.62	0.1207	
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	-4.415417	2.015592	-2.19	0.0405*	

Anexo Q. Efectos estimados para color a*

Response a					
Whole Model					
Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t	
Intercept	1.8566667	0.44866	4.14	0.0005*	
pH(3.8,4.5)	-2.035	0.274747	-7.41	<.0001*	
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	0.640625	0.274747	2.33	0.0303*	
Zumo adicionado, %(10,20)	0.383125	0.274747	1.39	0.1785	
pH*Sólidos Solubles, °Brix	-0.7275	0.388551	-1.87	0.0759	
pH*Zumo adicionado, %	0.3825	0.388551	0.98	0.3367	
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	1.32875	0.388551	3.42	0.0027*	
pH*pH	1.3297917	0.404417	3.29	0.0037*	
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	1.1635417	0.404417	2.88	0.0093*	
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	0.7685417	0.404417	1.90	0.0719	

Anexo R. Efectos estimados para color b*

Response b				
Whole Model				
▶ Analysis of Variance				
▶ Lack Of Fit				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	19.168333	2.224066	8.62	<.0001*
pH(3.8,4.5)	-3.01875	1.361957	-2.22	0.0384*
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	0.754375	1.361957	0.55	0.5858
Zumo adicionado, %(10,20)	-1.300625	1.361957	-0.95	0.3510
pH*Sólidos Solubles, °Brix	-1.165	1.926098	-0.60	0.5521
pH*Zumo adicionado, %	6.02	1.926098	3.13	0.0053*
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	3.83125	1.926098	1.99	0.0605
pH*pH	1.2339583	2.004746	0.62	0.5452
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	5.2852083	2.004746	2.64	0.0158*
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	0.4902083	2.004746	0.24	0.8093

Anexo S. Efectos estimados para el contenido de vitamina C.

Response Vit. C				
Whole Model				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	5.6168333	0.306329	18.34	<.0001*
pH(3.8,4.5)	0.1189688	0.187587	0.63	0.5331
Sólidos Solubles, °Brix(50,60)	-0.091369	0.187587	-0.49	0.6315
Zumo adicionado, %(10,20)	0.890725	0.187587	4.75	0.0001*
pH*Sólidos Solubles, °Brix	-0.261363	0.265288	-0.99	0.3363
pH*Zumo adicionado, %	0.562725	0.265288	2.12	0.0466*
Sólidos Solubles, °Brix*Zumo adicionado, %	-0.0306	0.265288	-0.12	0.9093
pH*pH	-0.380148	0.276121	-1.38	0.1838
Sólidos Solubles, °Brix*Sólidos Solubles, °Brix	-0.204873	0.276121	-0.74	0.4667
Zumo adicionado, %*Zumo adicionado, %	-0.897535	0.276121	-3.25	0.0040*