

# UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***DESARROLLO DE UNA CREMA INSTANTÁNEA DE LENTEJAS  
PARA EL ADULTO MAYOR CON BIOACCESIBILIDAD  
MEJORADA DE MICRONUTRIENTES RESPECTO A LA CREMA  
INSTANTÁNEA DE LENTEJAS DEL PACAM***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado  
de Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e Inocuidad  
de los alimentos por:

***GERALDINE FRANCIN REAÑO GARCÍA***

Director de Tesis: Mg. Andrea Bunger Timmermann

Co directores de tesis: Dra. María Mariotti Celis  
Dr. Rommy Zúñiga Pardo

Santiago-CHILE

Setiembre 2020

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER**

Se informa a la Dirección de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster presentada por la candidata

**GERALDINE FRANCIN REAÑO GARCÍA**

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e Inocuidad de los Alimentos en el examen público rendido el día

---

**Director de Tesis:**

**Mg. Andrea Bunger Timmerman** \_\_\_\_\_

**Co-director de Tesis:**

**Dra. María Mariotti Celis** \_\_\_\_\_

**Dr. Rommy Zúñiga Pardo** \_\_\_\_\_

**Comisión Evaluadora de Tesis:**

**Dra. Paz Robert Canales** \_\_\_\_\_

**Dr. Javier Parada Silva** \_\_\_\_\_

**Dr, Paula García Concha** \_\_\_\_\_

*Dedicado a mis queridos padres y hermanos.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	<b>vi</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
2.1 ENVEJECIMIENTO.....	3
2.2 MICRONUTRIENTES .....	3
2.3 PROGRAMA DE ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA DEL ADULTO MAYOR (PACAM) .....	4
2.4 MICROENCAPSULACIÓN .....	6
2.4.1 Agentes encapsulantes .....	9
2.5 BIOACCESIBILIDAD.....	10
2.6 EVALUACIÓN SENSORIAL .....	11
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	<b>13</b>
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
4.1 GENERAL.....	13
4.2 ESPECÍFICOS .....	13
<b>V. METODOLOGÍA</b> .....	<b>14</b>
5.1 PREPARACIÓN DE LAS DISPERSIONES Y EMULSIONES .....	15
5.1.1 Preparación de las dispersiones.....	15
5.1.2 Preparación de las emulsiones .....	16
5.2 SECADO POR ATOMIZACIÓN.....	17
5.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LAS MP .....	17
5.4 BIOACCESIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE MN EN LAS MP .....	19
5.4.1 Preparación de los fluidos simulados .....	20
5.4.2 Fase oral.....	21

5.4.3	Fase gástrica .....	22
5.4.4	Fase intestinal.....	22
5.4.5	Centrifugación.....	22
5.5	FORMULACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE LA CREMA INSTANTÁNEA DE LENTEJAS.....	23
5.6	CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CREMA DE LENTEJAS RECONSTITUIDA .....	23
5.7	CUANTIFICACIÓN DE LOS MN.....	24
5.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	26
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>27</b>
6.1	CARACTERIZACIÓN DE LAS MP CON INCORPORACIÓN DE HIERRO .....	27
6.2	CARACTERIZACIÓN DE LAS MP CON INCORPORACIÓN DE VITAMINA D <sub>3</sub> Y CALCIO .....	28
6.2.1	MP con incorporación de vitamina D <sub>3</sub> .....	29
6.2.2	MP con incorporación de calcio .....	31
6.3	BIOACCESIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE MN EN LAS MP .....	32
6.4	FORMULACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE LA CREMA INSTANTÁNEA DE LENTEJAS.....	35
6.5	CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CREMA DE LENTEJAS RECONSTITUIDA .....	38
6.5.1	Viscosidad.....	38
6.5.2	Índice de solubilidad.....	40
6.5.3	Evaluación sensorial .....	40
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación y características de algunos métodos de encapsulación .....	7
<b>Tabla 2.</b> Características del secado por atomización y agentes encapsulantes utilizados .....	8
<b>Tabla 3.</b> Factores que influyen en la bioaccesibilidad .....	11
<b>Tabla 4.</b> Composición de las dispersiones .....	15
<b>Tabla 5.</b> Composición de las emulsiones .....	16
<b>Tabla 6.</b> Composición de los fluidos simulados en base a 500 mL de solución. ....	21
<b>Tabla 7.</b> Condiciones de los sistemas de cromatografía .....	25
<b>Tabla 8.</b> Condiciones instrumentales .....	25
<b>Tabla 9.</b> Puntajes finales de las MP .....	33
<b>Tabla 10.</b> MP finalistas para la formulación de la crema instantánea de lentejas .....	35
<b>Tabla 11.</b> Formulación de la crema instantánea de lentejas .....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de la maltodextrina (A) y de la inulina (B) .....	9
<b>Figura 2.</b> Lugar de absorción de diferentes nutrientes (Dueñas y García, 2016) .....	10
<b>Figura 3.</b> Diagrama para la obtención de la crema instantánea de lentejas .....	14
<b>Figura 4.</b> Proceso <i>in vitro</i> de digestión gastrointestinal estático .....	20
<b>Figura 5.</b> Caracterización fisicoquímica de las MP con hierro (letras diferentes muestran diferencias significativas) .....	27
<b>Figura 6.</b> Caracterización fisicoquímica de las MP con vitamina D <sub>3</sub> (letras diferentes muestran diferencias significativas) .....	29
<b>Figura 7.</b> Caracterización fisicoquímica de las MP con calcio (letras diferentes muestran diferencias significativas) .....	31
<b>Figura 8.</b> Bioaccesibilidad <i>in vitro</i> de los MN sin microencapsular y las MP seleccionadas (letras diferentes muestran diferencias significativas).....	33
<b>Figura 9.</b> Bioaccesibilidad <i>in vitro</i> de la crema de lentejas instantánea desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM.....	36
<b>Figura 10.</b> Reograma de la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM .....	39

<b>Figura 11.</b> Viscosidad aparente de la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM.....	39
<b>Figura 12.</b> Prueba de diferencias contra control entre la crema instantánea de lentejas desarrollada (muestra) y la crema instantánea PACAM (control), el color gris indica diferencia significativa entre la muestra y el control. ....	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> PRUEBA DE DIFERENCIAS CONTRA CONTROL .....	55
<b>ANEXO 2.</b> ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA LSD DE LAS MP .....	58
<b>ANEXO 3.</b> ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA LSD PARA LOS ALIMENTOS .....	61
<b>ANEXO 4.</b> TABLAS DE RESULTADOS .....	63
<b>Tabla A1.</b> ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes .....	58
<b>Tabla A2.</b> ANOVA para R (%) por relación de encapsulantes .....	58
<b>Tabla A3.</b> Prueba LSD para R (%) por relación de encapsulantes .....	58
<b>Tabla A4.</b> ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes.....	58
<b>Tabla A5.</b> Pruebas LSD para ER (%) por relación de encapsulantes .....	58
<b>Tabla A6.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes .....	59
<b>Tabla A7.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes.....	59
<b>Tabla A8.</b> ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes .....	59
<b>Tabla A9.</b> Prueba LSD para IS (%) por relación de encapsulantes .....	59
<b>Tabla A10.</b> ANOVA para R (%) por relación encapsulantes .....	59
<b>Tabla A11.</b> Prueba LSD para R (%) por relación de encapsulantes .....	59
<b>Tabla A12.</b> ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes.....	60
<b>Tabla A13.</b> Prueba LSD para ER (%) por relación de encapsulantes.....	60
<b>Tabla A14.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes .....	60
<b>Tabla A15.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes.....	60
<b>Tabla A16.</b> ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes .....	60
<b>Tabla A17.</b> ANOVA para R (%) por relación de encapsulantes .....	60
<b>Tabla A18.</b> ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes.....	61
<b>Tabla A19.</b> Prueba LSD para ER (%) por relación de encapsulantes.....	61

<b>Tabla A20.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes .....	61
<b>Tabla A21.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes.....	61
<b>Tabla A22.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de vitamina D <sub>3</sub> por alimento.....	61
<b>Tabla A23.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de vitamina D <sub>3</sub> por alimento.....	61
<b>Tabla A24.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de calcio por alimento .....	62
<b>Tabla A25.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de calcio por alimento .....	62
<b>Tabla A26.</b> ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de hierro por alimento .....	62
<b>Tabla A27.</b> Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de hierro por alimento .....	62
<b>Tabla A28.</b> Resultados de la caracterización fisicoquímica de las MP .....	63
<b>Tabla A29.</b> Resultados de la bioaccesibilidad (%) de las MP .....	63
<b>Tabla A30.</b> Resultados de la bioaccesibilidad (%) de las cremas instantánea de lentejas .....	64



## RESUMEN

Las estadísticas de Chile revelan que el 95% de los adultos mayores (AM) controlados en los centros de salud pública del país, presentan déficit de micronutrientes (MN), lo que podría generar graves consecuencias para la salud. Frente a esto, el Estado Chileno en 1999 crea el Programa de Alimentación Complementaria del Adulto Mayor (PACAM), con la finalidad de mejorar el estado nutricional de los AM, a través de la entrega de dos alimentos fortificados. Sin embargo, estudios realizados han demostrado que estos alimentos no estarían cumpliendo su objetivo, debido a su baja bioaccesibilidad de MN, además de presentar un alto rechazo sensorial. En base a lo anterior, surge la necesidad de mejorar estas deficiencias, a través del desarrollo de nuevos alimentos. Por lo tanto, el objetivo de esta tesis fue desarrollar una crema instantánea de lentejas para el AM con bioaccesibilidad mejorada de MN, respecto a la crema instantánea de lentejas actualmente entregada por el PACAM. Para cumplir con este fin, se desarrollaron micropartículas (MP) cargadas con vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro, utilizando la técnica de secado por atomización, con maltodextrina (MD), inulina (IN) y caseinato de calcio (CA) como encapsulantes. Luego, se realizó la caracterización fisicoquímica de las MP en términos de su índice de solubilidad (%IS), eficiencia de retención (%ER) y rendimiento del proceso (%RP) y se seleccionaron las de mayor puntaje, de acuerdo con la ponderación establecida para cada característica. Seguidamente, se determinó la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN en estas MP, eligiéndose las de mayor bioaccesibilidad para ser adicionadas a una formulación de crema instantánea de lentejas a base de harinas de legumbres y cereales. Obtenida la crema instantánea de lentejas, se determinó nuevamente la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN mencionados y posteriormente se realizó la caracterización física y sensorial del alimento. En cuanto a los resultados, la relación y el tipo de encapsulante no afectaron significativamente el %IS para ninguna de las MP. Respecto al %RP, este se vio influenciado solo para las MP de calcio, incrementando esta característica en un 10% en las relaciones y tipo de encapsulantes MD:CA (1:1) y MD:CA (3:1). Del mismo modo, se observó un efecto significativo en el %ER, el cual incrementó en un 6% en la relación MD:IN (3:1) para las MP de hierro, 7% en la relación MD:IN (3:1) para las MP de vitamina D<sub>3</sub> y 16% en la relación MD:CA (3:1) para las MP de calcio. Por otro lado, el secado por atomización permitió obtener MP de vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro, con porcentajes de bioaccesibilidad mayores al 40% respecto a los MN sin encapsular. Además de ello, la adición de MP a la formulación de la

crema instantánea de lentejas, permitió incrementar en un 37%, 29% y 20% la bioaccesibilidad de vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro, respectivamente; respecto a la crema instantánea de lentejas PACAM. Por último, desde el punto de vista sensorial se logró obtener una crema significativamente menos espesa (con cuchara y en boca), con más sabor a lenteja y más fácil de tragar respecto a la crema de lentejas del PACAM. Se puede concluir que el diseño racional de un alimento, basado en la incorporación de MN encapsulados y la evaluación de sus características fisicoquímicas; permiten incrementar la bioaccesibilidad de los MN en el mismo.

## ABSTRACT

Chile's statistics reveal that 95% of the older adults (AM) monitored in the country's public health centers have micronutrients (MN) deficiencies, which could generate serious health consequences. In view of this, in 1999 the Chilean State created the Programme of Complementary Feeding of the Elderly (PACAM), with the aim of improving the nutritional status of the AM, through the delivery of two fortified foods. However; studies have shown that these foods do not meet their objective because of their low bioaccessibility of MN and their high level of sensory rejection. Based on the above, there is a need to improve these deficiencies through the development of new foods. Therefore, the objective of this thesis was to develop a lentil instant cream for AM with improved bioaccessibility of MN, compared to the lentil instant cream currently delivered by PACAM. To this end, microparticles (MP) loaded with vitamin D<sub>3</sub>, calcium and iron were developed, using the spray-drying technique, and maltodextrin (MD), inulin (IN) and calcium caseinate (CA) as encapsulants. Then, the physicochemical characterization of the MP was performed in terms of their solubility index (%IS), retention efficiency (%ER) and process yield (%RP) and the ones with the highest score were selected, according to the weighting established for each characteristic. Then, the *in vitro* bioaccessibility of the MN in these MP was determined, and those with the highest bioaccessibility were chosen to be added to a formulation of instant cream of lentils based on legume and cereal flours. Once the instantaneous cream of lentils was obtained, the *in vitro* bioaccessibility of the mentioned MN was determined again and then the physical and sensory characterization of the food was carried out. As for the results, the ratio and type of encapsulant did not significantly affect the %IS for any of the MP. Regarding the %RP, it was influenced only for calcium MP, increasing this characteristic by 10% in the ratios and type of encapsulants MD:CA (1:1) and MD:CA (3:1). Similarly, a significant effect was observed in the %ER, which increased by 6% in the MD:IN ratio (3:1) for iron MP, 7% in the MD:IN ratio (3:1) for vitamin D<sub>3</sub> MP, and 16% in the MD:CA ratio (3:1) for calcium MP. On the other hand, spray-drying made it possible to obtain MP of vitamin D<sub>3</sub>, calcium and iron, with bioaccessibility percentages higher than 40% with respect to non-encapsulated MN. In addition, the addition of MP to the formulation of instant lentil cream allowed an increase of 37%, 29% and 20% in the bioaccessibility of vitamin D<sub>3</sub>, calcium and iron, respectively, compared to instant lentil cream PACAM. Finally, it was possible to obtain a significantly thinner cream (with a spoon and in the mouth), with more lentil flavor and easier to swallow than the PACAM lentil cream. It can be concluded that the rational design of a food, based on the incorporation of encapsulated MN and the evaluation of its physicochemical characteristics; allows to increase the bioaccessibility of MN in the food.

## I. INTRODUCCIÓN

Las estadísticas de Chile revelan que el 16,3% de su población está en la categoría etaria de adultos mayores (AM), siendo éste el segmento demográfico más emergente. Asimismo, se estima que el porcentaje actual se incrementará a un 17,3% para el año 2020. Aún más, para el año 2050 se espera que Chile sea el segundo país de América Latina con mayor porcentaje de AM (30,7%), sólo antecedido por Cuba (38,4%) (SENAMA, 2017). En este contexto, estudios recientes, han señalado que hasta un 95% de los AM chilenos mantienen un déficit en micronutrientes (MN), lo cual se traduce en mayores riesgos de salud (Durán *et al.*, 2015). Dentro de los MN que presentan mayor déficit a nivel plasmático están la vitamina D (70%) (Schweitzer *et al.*, 2016), hierro (36%) (Osorio y Barrientos, 2015) y calcio (33%) (Proyecto FONDEF ID17AM0018, 2018). Estos MN presentan los niveles más críticos en los AM chilenos, por lo que se hace necesaria su suplementación a través de la fortificación de matrices alimentarias.

En respuesta a este problema, el Estado ha dispuesto diversas estrategias para mejorar la nutrición de los AM chilenos. A través de ellas es posible la prevención de enfermedades, disminuyendo los gastos del estado en salud (Durán *et al.*, 2014). Dentro de los diversos programas con los que cuenta el Estado de Chile, destaca el Programa de Alimentación Complementaria del Adulto Mayor (PACAM), iniciativa que desde 1999 trabaja en pro de la calidad nutricional del AM (Manual de Programas Alimentarios, 2011).

El PACAM ha demostrado ser efectivo, en relación a la cobertura y público objetivo al que apunta. No obstante, los alimentos del PACAM muestran un alto porcentaje de rechazo por parte del AM, debido a factores sensoriales (Ministerio de Salud, 2014). Sumado a esto, la fortificación de alimentos sólo se considera en el diseño y desarrollo de la matriz alimentaria, sin considerar la absorción de esos MN a nivel intestinal (Parada y Aguilera, 2007), por lo que se hace imprescindible abordar la problemática desde un enfoque centrado en el proceso digestivo del AM, para mejorar la absorción de los MN críticos.

En consecuencia, existe la necesidad de abordar esta situación mediante la ejecución de una propuesta con base de ciencia aplicada, permitiendo articular diversos actores relevantes en la materia. Debido a ello surge la necesidad de investigar y desarrollar una crema instantánea de lentejas para el AM con bioaccesibilidad mejorada de MN respecto a la crema instantánea de lentejas del PACAM.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 ENVEJECIMIENTO**

El envejecimiento se define como el “Proceso fisiológico que comienza en la concepción y ocasiona cambios en las características de las especies durante todo el ciclo de vida; esos cambios producen una limitación de la adaptabilidad del organismo en relación con el medio. Los ritmos a que estos cambios se producen en los diversos órganos de un mismo individuo o en distintos individuos no son iguales” (OMS, 2009).

Al envejecer, la mayoría de los órganos del cuerpo se van deteriorando. En el caso de los órganos de los sentidos, se ve afectada la capacidad visual por degeneración macular del ojo, la capacidad olfativa, por degeneración de las células olfativas y la sensibilidad gustativa por disminución de las papilas gustativas linguales. Esta pérdida de sensibilidad altera la relación del AM con su entorno y muy especialmente en el ámbito sensorial respecto a los alimentos, por ello tiende a pensar que la comida está insípida o poco sabrosa (Ruíz y Artacho, 2010).

Durante esta etapa también se presentan procesos digestivos más lentos, debido a la disminución en la producción del jugo gástrico y en la intensidad de movimientos peristálticos. Por otro lado, enfermedades como el reflujo gastroesofágico pueden afectar a poco más del 40% de AM de más de 80 años, lo que conlleva a problemas de malabsorción de diversos MN, como vitamina B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>, D, así como hierro y calcio (Montero y Ribera, 2002; Ruíz y Artacho, 2010). En definitiva, todos estos cambios fisiológicos contribuyen al deterioro del estado nutricional del AM, puesto que repercuten en la absorción de macro y MN.

### **2.2 MICRONUTRIENTES**

Los MN son requeridos por el organismo en muy pequeñas cantidades, pero no por eso dejan de ser esenciales y de vital importancia para el buen funcionamiento del mismo. Según su naturaleza química se clasifican en vitaminas y minerales (Páez, 2012).

Las vitaminas son compuestos orgánicos que funcionan como antioxidantes y como cofactores para muchas reacciones enzimáticas, además sirven como reguladores del metabolismo de los minerales (Mahan *et al.*, 2012; Mueller, 2012; Doley 2017). Estos MN se clasifican en liposolubles o hidrosolubles, en ambos casos se produce una disminución de la absorción y/o producción metabólica con el envejecimiento, el caso más crítico se produce con la vitamina D (Tsiaras y Weinstock, 2011). La malabsorción de vitamina D es una problemática compleja, debido a la importancia de este MN en la prevención de enfermedades musculoesqueléticas (Álvarez *et al.*, 2012). Por consiguiente, un AM debe tener una disponibilidad de vitamina D, según la Dosis Diaria Recomendada de 600 IU (Doley, 2017).

Por otro lado, los minerales son sustancias inorgánicas que cumplen funciones hormonales, metabólicas, enzimáticas, energéticas y estructurales (Mahan *et al.*, 2012; Mueller, 2012; Doley, 2017). Un mineral crítico en este sentido es el calcio, con una determinante participación de la estructuración ósea de huesos y dientes. Este mineral se ve disminuido a nivel plasmático en los AM, lo que se traduce en un mayor índice de osteoporosis y otras enfermedades degenerativas del sistema óseo (Gil *et al.*, 2013). En base a lo anterior, un AM hombre debe disponer de una Dosis Diaria Recomendada, entre 1000-1200 mg y una mujer de 1200 mg (Doley, 2017). Algo similar ocurre con el hierro, cuyo déficit plasmático por malabsorción puede producir anemia (Gil *et al.*, 2013). Por tanto, un AM debe tener una disponibilidad de hierro, según la Dosis Diaria Recomendada, de 8 mg (Doley, 2017).

### **2.3 PROGRAMA DE ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA DEL ADULTO MAYOR (PACAM)**

El PACAM es una iniciativa del Estado de Chile que tiene como propósito mantener o mejorar el estado nutricional y la funcionalidad del AM, a fin de mejorar su calidad de vida. Por consiguiente, distribuye alimentos fortificados instantáneos, como la Crema Años Dorados (CAD) y la Bebida Láctea Años Dorados (BLAD), a los AM inscritos en el programa de Atención Primaria del Sistema Nacional de Servicios de Salud (Norma Técnica de los Programas Alimentarios, 2016).

Respecto a estos alimentos, los pocos estudios realizados demuestran el escaso efecto en la mejora del estado nutricional del AM, y la baja aceptabilidad sensorial de los productos. A continuación, algunos de estos estudios:

Silva *et al.* (2008) realizaron un estudio descriptivo de corte transversal sobre las preferencias en los sabores, sugerencias de nuevos sabores y frecuencia de consumo de los alimentos del PACAM, en 140 AM inscritos en dos Centros de Salud de la Región Metropolitana. Los datos se recopilaban a través de una encuesta de selección múltiple previamente validada. Respecto a la fórmula CAD, los sabores preferidos por los AM fueron espárrago y lentejas (45% y 29%, respectivamente). Por otro lado, el sabor que presentó mayor rechazo fue el de arvejas (50%). Respecto al BLAD, el 84% de los AM señaló que el alimento le agradaba y lo prefería frente a productos similares. En cuanto al consumo de CAD y BLAD, el 34% de los AM indicó consumir el producto CAD dos veces a la semana y el 29% tres veces o más. En cambio, el 40% refirió consumir BLAD tres veces o más a la semana. Finalmente, los AM señalaron que, frente a la posibilidad de nuevos sabores, manifestaron interés en pollo (54%) y choclo (21%) para CAD, y frutilla (27%), vainilla (19%) y chocolate (16%) para BLAD.

Masi y Atalah (2008) realizaron un estudio transversal analítico en una muestra de AM (70-80 años), con 18 meses de permanencia mínima en el PACAM de la Región Metropolitana. Se estudiaron dos grupos independientes: uno para analizar la aceptabilidad y consumo habitual de los alimentos del programa (n=125) y otro para evaluar el aporte nutricional de estos alimentos (n=73 alimentación con PACAM y n=27 alimentación sin PACAM). En la encuesta de aceptabilidad, se preguntaron las características organolépticas y la apreciación global; y la encuesta alimentaria fue de recordatorio de 24 horas con el fin de estimar el consumo y el aporte nutricional. Para el análisis de los datos se utilizó el programa computacional Food Processor II, a través del cual fueron calculadas las cantidades de macro y micronutrientes aportados por la alimentación general y por los alimentos del PACAM. Los resultados demostraron que BLAD tuvo una muy buena aceptabilidad (81%), respecto a CAD que sólo obtuvo un 31%, además de ello la frecuencia de consumo de BLAD (6 días/semana) fue significativamente mayor que CAD (4 días/semana). En cuanto al aporte nutricional, el consumo de estos



alimentos aumentó significativamente, el aporte de energía y de algunos MN en el AM, destacando la vitamina B<sub>12</sub>, C, E, zinc y calcio, que aumentaron más del doble.

Sánchez *et al.* (2013) evaluaron la efectividad del PACAM para suplir el déficit de vitamina B<sub>12</sub>. El estudio se realizó en 351 AM de 65-67 años, los cuales proporcionaron muestras de sangre al inicio del estudio y después de 24 meses. El grupo de intervención (186 AM divididos en 10 grupos) recibió los alimentos PACAM, diseñados para suministrar en forma conjunta 1,7 µg/día de vitamina B<sub>12</sub>, mientras que el grupo de control no recibió alimentos complementarios (165 AM divididos en 10 grupos). Se evaluaron los niveles séricos de vitamina B<sub>12</sub> y folato mediante radioinmunoensayo. Los resultados mostraron que los niveles séricos de B<sub>12</sub> disminuyeron entre el inicio y los 24 meses solo en los hombres del grupo de intervención (-39,4 pmol/L) y del grupo de control (-57,3 pmol/L), sin embargo; esta disminución no fue significativa entre ambos grupos. Respecto al folato, los niveles séricos disminuyeron significativamente entre el inicio y los 24 meses en el grupo de intervención (-8,3 nmol/L) y el grupo de control (-7.2 nmol/L), sin diferencias entre ambos grupos. En general, no se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de vitamina B<sub>12</sub> y folato, entre el inicio y los 24 meses del estudio entre ambos grupos. Por lo tanto, se concluyó que los alimentos del PACAM no son efectivos para asegurar niveles plasmáticos adecuados de vitamina B<sub>12</sub> en los AM.

## **2.4 MICROENCAPSULACIÓN**

La microencapsulación consiste en una serie de tecnologías, cuyo fin es empaquetar dentro de una matriz polimérica, un compuesto de interés bioactivo. En el caso de MN, estos se introducen dentro de una matriz de naturaleza biopolimérica de grado alimentario, cuyo tamaño es micro o nanométrico (Desai y Park, 2005). Los productos de la microencapsulación pueden ser microcápsulas (MC) o micropartículas (MP). La MC es una estructura con un núcleo bioactivo y una cáscara o pared biopolimérica. Por otro lado, una MP es una matriz sólida donde el MN se distribuye fina y uniformemente en toda la matriz (Benavides *et al.*, 2016).

Una de las principales ventajas de esta tecnología, es que protege de condiciones ambientales adversas algunos componentes de los alimentos, como las vitaminas y minerales, y además, puede controlar la liberación del MN en una zona específica del sistema digestivo (intestino delgado o colon), y en algunos casos, a una tasa relativamente controlada lo que facilita su absorción (Yañez *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2010).

Existen diversas técnicas de encapsulación, las cuales se clasifican en químicas y físicas (Madene *et al.*, 2006), la Tabla 1 muestra algunas de esas metodologías.

**Tabla 1. Clasificación y características de algunos métodos de encapsulación**

<b>Tipo de técnica</b>	<b>Método de encapsulación</b>	<b>Tamaño de partícula (µm)</b>
Química	Coacervación simple	20 – 200
	Coacervación compleja	5 – 200
	Inclusión molecular	5- 50
Física	Secado por atomización	1 – 50
	Enfriamiento por atomización	20 – 200
	Extrusión	200 – 2000
	Fluidización en lecho	> 100

**Fuente:** Madene et al. (2006)

Una de las técnicas físicas más común de utilizar para la microencapsulación de MN es el secado por atomización. Se trata de una operación unitaria, mediante la cual una dispersión o emulsión se atomiza y se seca en una corriente de aire caliente. Los productos son MP de tamaño micrométrico, de aspecto pulverulento (Desai y Park, 2005; Augustin y Hemar, 2009; Zuidam y Shimoni, 2010). El secado por atomización es ampliamente utilizado en la industria alimentaria para la encapsulación de ingredientes alimentarios, compuestos bioactivos (vitaminas, minerales) u otros compuestos de interés (Soottitantawat *et al.*, 2004; Anandharamakrishnan *et al.*, 2007; Sosa *et al.*, 2014).

En la Tabla 2, se muestran algunas características de este método y los agentes encapsulantes mayormente utilizados.

**Tabla 2. Características del secado por atomización y agentes encapsulantes utilizados**

Características		Agentes encapsulantes utilizados
Del método	De las MP	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil de manejar</li> <li>• Bajos costo</li> <li>• Alto rendimiento</li> <li>• Fácil escalamiento</li> <li>• Amplia selección de agentes encapsulantes</li> <li>• Eficiencia de encapsulación 10% – 90%</li> </ul> <p><b>Referencias:</b> Fernández <i>et al.</i> (2013, 2014); Taylor <i>et al.</i> (2012); Bringas-Lantigua <i>et al.</i> (2012); Sarkar <i>et al.</i> (2012).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forma esférica</li> <li>• Buena estabilidad</li> <li>• Liberación controlada</li> </ul> <p><b>Referencias:</b> Saffari <i>et al.</i> (2013); Casanova <i>et al.</i> (2016); Paiva <i>et al.</i> (2015).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Quitosano</li> <li>• Goma arábica</li> <li>• Goma guar</li> <li>• Maltodextrina</li> <li>• Caseinatos</li> <li>• Inulina</li> </ul> <p><b>Referencias:</b> Paramita <i>et al.</i> (2012); Gharsallaoui <i>et al.</i> (2012); Estevinho <i>et al.</i> (2013, 2014, 2015).</p>

**Fuente:** Elaboración propia

Para obtener un proceso de secado exitoso es necesario tomar en cuenta la naturaleza de la dispersión o emulsión (contenido de sólidos, viscosidad, temperatura) y las condiciones de operación (tipo de atomizador, velocidad de operación y presión, temperatura de entrada), debido a que estos parámetros determinan las propiedades físicas de las MP (Nakagawa *et al.*, 2011; De Barros *et al.*, 2013).

Respecto a lo anterior, antes de la etapa de secado, la dispersión o emulsión formada debe ser estable en un cierto lapso de tiempo y tener una baja viscosidad para prevenir la inclusión de aire en la MP; además de ello, en el caso de las emulsiones las partículas de aceite deben de ser pequeñas (Drusch, 2006; Gharshaloui *et al.*, 2007; Jafari *et al.*, 2008).

Por otro lado, es recomendable un alto contenido de sólidos (20% – 40%), ya que así se disminuye la cantidad de agua a evaporar, incrementando la retención de compuestos debido a la formación rápida de la pared (Fernández *et al.*, 2008). Cabe mencionar que los sólidos seleccionados para el proceso deben ser solubles en agua a un nivel aceptable, al menos 80% (De Barros *et al.*, 2013).

Por último, la temperatura de secado es importante para optimizar el proceso y obtener un producto final de alta calidad. Se ha demostrado que a temperaturas entre 150 °C y 220 °C se forma rápidamente una pared semipermeable que brinda una retención óptima del material bioactivo, el uso de temperaturas más altas podría causar daño térmico e imperfecciones en la superficie (Gharsalloui *et al.*, 2007; Fang y Bhandari, 2012).

#### 2.4.1 Agentes encapsulantes

Dentro de los agentes encapsulantes ampliamente utilizados, se encuentran las maltodextrinas, que son polisacáridos producidos por hidrólisis del almidón y exhiben buenas cualidades como material de pared (Nunes *et al.*, 2018). De igual forma la inulina, que a diferencia de las maltodextrinas es difícil de hidrolizar, es calificada como una molécula de matriz para las MP que deben alcanzar el colon y sobrevivir en la parte superior del tracto gastrointestinal (Figura 1) (Gibson *et al.*, 2004).

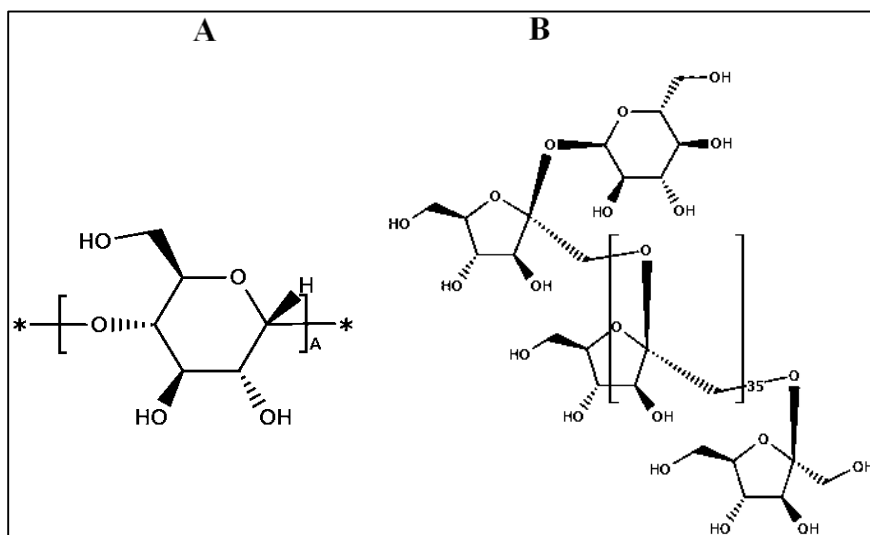
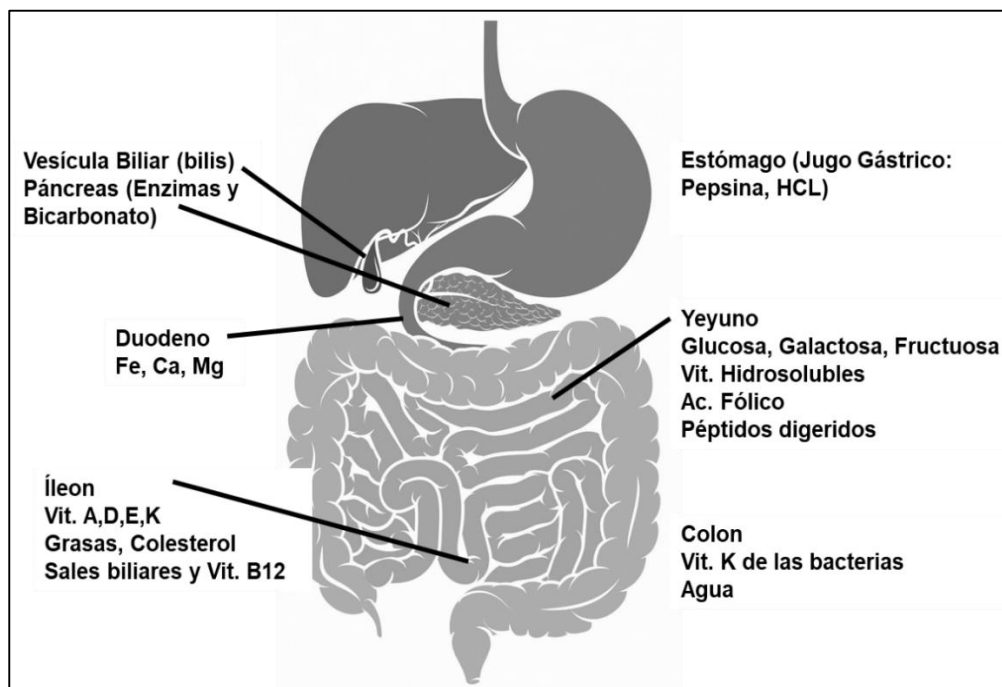


Figura 1. Estructura química de la maltodextrina (A) y de la inulina (B)

Otros agentes encapsulantes son las proteínas alimentarias, como el caseinato de sodio, caseinato de calcio, proteína de lactosuero, aislados de proteína de soya, gluten y gelatina, esta última utilizada por sus buenas propiedades de emulsificación, formación de pared, solubilidad en agua y biodegradabilidad (Murúa-Pagola *et al.*, 2009).

## 2.5 BIOACCESIBILIDAD

La bioaccesibilidad es la cantidad de un compuesto que es liberado de la matriz alimentaria en el sistema gastrointestinal, y está disponible para su absorción (Gawlik, 2012; Cardoso *et al.*, 2015). Respecto a los nutrientes, esta absorción se da en distintas partes del intestino delgado y el colon (Figura 2).



**Figura 2. Lugar de absorción de diferentes nutrientes (Dueñas y García, 2016)**

Existen diversos factores que influyen en la bioaccesibilidad, ya sea incrementando o disminuyendo su porcentaje. Valencia *et al.* (2013), han clasificado estos factores en fisiológicos o dependientes del sujeto; y alimentarios o dependientes de la matriz alimentaria (Tabla 3).

**Tabla 3. Factores que influyen en la bioaccesibilidad**

<b>Fisiológicos</b> <b>Dependientes del sujeto</b>	<b>Alimentarios</b> <b>Dependientes de la matriz alimentaria</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Grupo etario</li> <li>– Estado nutricional del individuo</li> <li>– Ingesta previa</li> <li>– Eficiencia del proceso digestivo</li> <li>– Tiempo de tránsito intestinal</li> <li>– Situaciones especiales</li> <li>– Enfermedades gastrointestinales</li> <li>– Patologías diversas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Composición de la matriz alimentaria</li> <li>– Forma química del nutriente</li> <li>– Presencia de otros componentes y/o sustancias bioactivas</li> <li>– Agregado de componentes extrínsecos: ej. Ingredientes, aditivos, fortificantes, etc.</li> <li>– Procesado y/o almacenamiento</li> </ul>

**Fuente:** Valencia et al. (2013)

Para determinar la bioaccesibilidad, se utilizan diversas metodologías *in vitro*, que determinan la cantidad de nutrientes disponibles para la absorción intestinal (Carbonell *et al.*, 2014). Dentro de estas metodologías están los modelos gastrointestinales estáticos, que simulan la digestión gastrointestinal en condiciones de laboratorio, sin considerar los procesos físicos como cizallamiento, mezcla, hidratación, entre otros (Parada y Aguilera, 2007; Buniowska *et al.*, 2017). Esta digestión consiste en la simulación de las fases oral, gástrica y duodenal, incorporando enzimas (amilasa, pepsina, pancreatina, entre otras) en cada fase a un pH establecido (2-7), con un determinado tiempo de agitación (1-2 h) a una temperatura igual a la corporal (37 °C) (Buniowska *et al.*, 2017).

## **2.6 EVALUACIÓN SENSORIAL**

La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos de las personas, hacia ciertas características de un alimento o material (Moreno, 2012; Stone *et al.*, 2012). Estas evaluaciones son utilizadas en diversos tipos de industrias, tales como: la industria alimentaria, la perfumera, farmacéutica, la industria de pinturas y tintes, entre otras (Moreno, 2012).

Dentro de las principales características sensoriales de los alimentos destacan: el olor, que está asociado a las sustancias volátiles liberadas del alimento; el color, que es la luz reflejada en la superficie de los alimentos; el sabor, que es el resultado de la percepción conjunta del sentido del gusto y olfato hacia el alimento; y la textura, que está asociada a las propiedades mecánicas, reológicas y estructurales del alimento (Moreno, 2012; Andrade *et al.*, 2010).

Dentro de las pruebas sensoriales que existen, una de ellas es el test de diferencias contra control, que se utiliza para determinar si existe diferencia sensorial entre una o más muestras y un control. Básicamente, esta prueba consiste en presentar una muestra control más una o más muestras de prueba, pidiendo a los jueces calificar la diferencia entre cada muestra y el control en varios atributos, de acuerdo con una escala proporcionada para tal fin. Los paneles para este tipo de prueba están conformados generalmente por jueces entrenados (Meilgaard *et al.*, 2015).

### **III. HIPÓTESIS**

La encapsulación de MN, mediante secado por atomización, permitirá incrementar la bioaccesibilidad *in vitro* de los mismos en una crema instantánea de lentejas para el AM.

### **IV. OBJETIVOS**

#### **4.1 GENERAL**

Desarrollar una crema instantánea de lentejas para el AM con bioaccesibilidad mejorada de MN en un 30 %, respecto a la crema instantánea de lentejas PACAM.

#### **4.2 ESPECÍFICOS**

1. Evaluar la influencia de la relación y tipo de encapsulante sobre el índice de solubilidad, el rendimiento del proceso y la eficiencia de retención, en MP cargadas con vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro obtenidas mediante secado por atomización.
2. Determinar la bioaccesibilidad de los MN (vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro) encapsulados, mediante un proceso *in vitro* de digestión gastrointestinal estático.
3. Formular una crema instantánea de lentejas con la adición de las MP cargadas con MN (vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro) y determinar su bioaccesibilidad mediante un proceso *in vitro* de digestión gastrointestinal estático.
4. Realizar una evaluación sensorial mediante una prueba de diferencias contra control, entre la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas del PACAM.



## V. METODOLOGÍA

Se desarrolló una crema instantánea de lentejas, a partir de harinas de legumbres y cereales, incorporando algunos MN críticos encapsulados (vitamina D<sub>3</sub>, calcio, hierro), con la finalidad de mejorar su bioaccesibilidad. Según lo anterior, en primer lugar, se desarrollaron las MP, para lo cual, se prepararon dispersiones y emulsiones según la hidrofobicidad de los MN, posteriormente fueron microencapsuladas utilizando la técnica de secado por atomización. Luego, se realizó la caracterización fisicoquímica de las MP y se seleccionaron las que tenían mejores puntajes, de acuerdo con la ponderación establecida para cada característica. Seguidamente, se determinó la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN en estas MP, y se seleccionaron las que obtuvieron la mayor bioaccesibilidad. Una vez obtenidas las MP, se procedió a la formulación de la crema instantánea de lentejas, mezclando y homogenizando las harinas de legumbres y cereales, previamente tamizadas, los ingredientes y las MP con mayor bioaccesibilidad *in vitro* de MN. Obtenida la crema instantánea de lentejas, se determinó nuevamente la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN mencionados y posteriormente se realizó la caracterización física y sensorial del alimento (Figura 3).

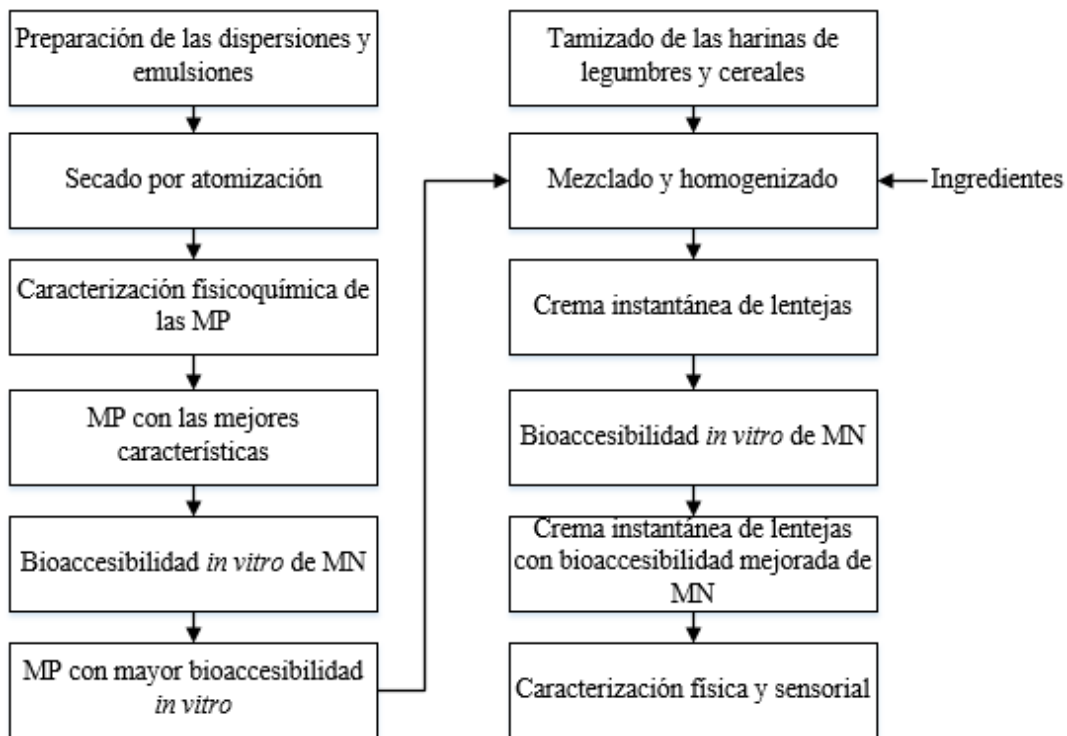


Figura 3. Diagrama para la obtención de la crema instantánea de lentejas

A continuación, se detalla el proceso realizado para la obtención de la crema instantánea de lentejas:

## 5.1 PREPARACIÓN DE LAS DISPERSIONES Y EMULSIONES

Para la preparación de las dispersiones y emulsiones, se utilizaron como encapsulantes: maltodextrina de maíz (MD) (Alfa Group, Chile), inulina de achicoria (IN) (Orafti® HPX, Alfa Group, Chile) y caseinato de calcio (CA) (Alfa Group, Chile). Los MN utilizados fueron: vitamina D<sub>3</sub> (pureza  $\geq$  98%, Sigma-Aldrich, Missouri, USA), lactato de calcio pentahidratado (13,95% p/p de calcio, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) y sulfato ferroso monohidrato (31% p/p de hierro, Sigma-Aldrich, Missouri, USA). Además de ello, para la fabricación de las emulsiones se utilizaron Tween 80 (polisorbato 80, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) y aceite de maravilla.

### 5.1.1 Preparación de las dispersiones

Se prepararon las dispersiones entre el MN (hierro) y la solución polimérica que dará el sostén estructural a las MP. Para ello se elaboró una dispersión de los encapsulantes (MD:IN) en agua purificada a una concentración total de 10% (p/p). Para facilitar la disolución de los mismos, la solución se llevó a agitación a 500 rpm en un agitador magnético (Boeco, modelo MSH-420, Alemania) a una temperatura de 50 °C por 20 min. Posteriormente, se enfrió a temperatura ambiente (18 $\pm$ 2 °C) y se incorporó el MN a una concentración de 10% (p/p) manteniendo una agitación de 500 rpm por 10 minutos. La composición de cada dispersión se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4. Composición de las dispersiones**

Micronutriente		Agua	Componentes encapsulantes (% p/p)		Relación MD:IN
Tipo	% (p/p)	% (p/p)	MD	IN	
Hierro	10	80	5,0	5,0	1:1
			7,5	2,5	3:1

**Fuente:** Elaboración propia

### 5.1.2 Preparación de las emulsiones

El diseño experimental de las emulsiones a encapsular, incluyó vitamina D<sub>3</sub> y calcio. Además, se utilizaron como encapsulantes mezclas de MD:IN y MD:CA (Tabla 5). Para las emulsiones con vitamina D<sub>3</sub>, se procedió a mezclar el MN con el aceite maravilla y el Tween-80. Paralelamente se mezclaron los encapsulantes MD:IN o MD:CA con agua purificada a una concentración total de 10% (p/p), calentada a 50 °C y agitada a 500 rpm por 20 min. Finalmente se efectuó una pre-emulsión (O/W), adicionando la fase oleosa, fortificada con vitamina D<sub>3</sub>, a la solución de encapsulantes (MD:IN y MD:CA respectivamente), enfriada a temperatura ambiente (18±2 °C). Para ello se utilizó un agitador mecánico (Kinematika Polytron, modelo PT 2500 E, Suiza) a 10000 rpm por 3 min. Posteriormente la pre-emulsión, se estabilizó por medio de un homogenizador (GEA, modelo Panda Plus 2000, Italia) a una presión de 300 bar y 3 ciclos de homogenización.

Para las emulsiones con calcio, se procedió de manera similar al caso anterior, con la variación de que la fuente de calcio se dispuso en la solución acuosa, junto con el material encapsulante. Por otro lado, el aceite se adicionó solo con la incorporación del Tween-80. El proceso de pre-emulsión y estabilización se efectuó igual que para el caso anterior.

**Tabla 5. Composición de las emulsiones**

Micronutriente		Agua	Componentes encapsulantes (%p/p)					Relación
Tipo	% p/p	% p/p	Aceite	Tween 80	MD	IN	CA	MD:IN:CA
Vitamina D <sub>3</sub>	10	74	5,4	0,6	5,0	5,0	0,0	1:1:0
					7,5	2,5	0,0	3:1:0
					5,0	0	5,0	1:0:1
					7,5	0	2,5	3:0:1
Calcio	10	74	5,4	0,6	5,0	5,0	0,0	1:1:0
					7,5	2,5	0,0	3:1:0
					5,0	0	5,0	1:0:1
					7,5	0	2,5	3:0:1

**Fuente:** Elaboración propia

## 5.2 SECADO POR ATOMIZACIÓN

Las dispersiones y emulsiones obtenidas fueron deshidratadas mediante secado por atomización, el proceso fue realizado a 120 °C y 130 °C, respectivamente. El flujo de alimentación del secador (LabPlant Spray Dryer, modelo SD-06, Inglaterra) fue de 16 mL/min, con velocidad del ventilador de 4 m/s y velocidad rápida del atomizador (deblocker). Una vez terminado cada proceso de secado, las MP se almacenaron en empaques laminados poliméricos con capa de aluminio, sellados herméticamente para evitar la absorción de humedad por parte de las mismas.

## 5.3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LAS MP

Una vez desarrolladas las MP, se realizó la caracterización fisicoquímica de cada una de ellas, como se detalla a continuación:

- **IS (%):** Se disolvieron 0,10 g de MP en 10 mL de agua purificada a 60 °C, posteriormente la dispersión se centrifugó a 5000 rpm por 10 min. El sobrenadante se transfirió a una placa Petri y llevó a una estufa de secado (WTC Binder, modelo D778532, Alemania) a 105 °C por 5 h. Para determinar el índice de solubilidad en agua se efectuó el siguiente cálculo (Cano *et al.*, 2005):

$$IS (\%) = \frac{\text{peso seco del sobrenadante (g)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100\% \quad (\text{Ec. 1})$$

- **RP (%):** Se calculó en base a la relación porcentual, entre la masa total de sólidos secos en las MP obtenidas ( $M_{tm}$ ) y la masa total de sólidos secos en la dispersión o emulsión ( $M_{td}$ ) utilizada (Benavides *et. al.*, 2016).

$$RP (\%) = \frac{M_{tm} (\text{g})}{M_{td} (\text{g})} \times 100\% \quad (\text{Ec. 2})$$

- **ER (%):** La ER, se calculó según lo descrito por Benavides *et. al.* (2016), que se basa en la relación porcentual entre la tasa de carga real ( $TC_{real}$ ) y la tasa de carga teórica ( $TC_{teórica}$ ) de las MP. Respecto al porcentaje de la  $TC_{teórica}$ , esta se calculó a partir de la relación entre la masa del MN en una muestra de MP ( $M_a$ ) y la masa de esa muestra de MP ( $M_m$ ). Esta  $TC_{teórica}$  se utilizó como patrón comparativo y se asumió como la máxima capacidad de carga del MN en las MP. Paralelamente se determinó la  $TC_{real}$ , mediante análisis de laboratorio.

$$TC_{teórica} (\%) = \frac{M_a}{M_m} \times 100\% \quad (\text{Ec. 3})$$

$$ER (\%) = \frac{TC_{real} (\%)}{TC_{teórica} (\%)} \times 100\% \quad (\text{Ec. 4})$$

Las tres características fisicoquímicas mencionadas, fueron ponderadas en función a la importancia de cada una de ellas para el desarrollo de esta investigación como se detalla a continuación:

El IS (%) debe ser lo más bajo posible, pues se requiere que las MP se incorporen al sistema digestivo del AM, y no se desintegren al contacto con el agua de solubilización del alimento durante su preparación. En este sentido, al ser un parámetro que afecta en gran medida la bioaccesibilidad de los MN se le dio 40 puntos (Ec. 5).

$$\text{Puntaje} = \frac{\text{Menor IS\% obtenido}}{\text{IS\% observado}} \times 40 \quad (\text{Ec. 5})$$

Respecto al RP (%), este parámetro por lo general es alto y depende del equipo utilizado. Sin embargo, sólo se le dio 10 puntos, pues no tiene ningún efecto directo sobre la bioaccesibilidad de los MN (Ec. 6).

$$\text{Puntaje} = \frac{\text{RP\% observado}}{\text{Mayor RP\% obtenido}} \times 10 \quad (\text{Ec. 6})$$

Por último, la ER debe ser la más alta posible, pues es un indicador del aporte en peso del MN dentro de las MP, por ende, posiblemente las MP que tengan un mayor porcentaje de ER, tendrán también un mayor porcentaje de bioaccesibilidad de MN. De acuerdo a lo anterior, al ser este parámetro el más importante de nuestro estudio, se le dio 50 puntos (Ec. 7).

$$\text{Puntaje} = \frac{\text{ER\% observado}}{\text{Mayor ER\% obtenido}} \times 50 \quad (\text{Ec. 7})$$



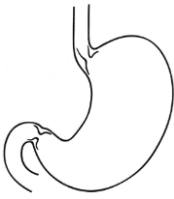


El puntaje final de cada MP se determinó como la suma ponderada de los 3 parámetros indicados (Ec. 8):

$$\text{Puntaje final} = \text{IS(\%)} + \text{RP(\%)} + \text{ER(\%)} \quad (\text{Ec. 8})$$

#### **5.4 BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE MN EN LAS MP**

Realizada la ponderación de la caracterización fisicoquímica de las MP, el puntaje final más alto para las MP con hierro, y los dos puntajes más altos para las MP con vitamina D<sub>3</sub> y calcio, fueron seleccionados para cuantificar la bioaccesibilidad *in vitro* de estos MN.

Esta cuantificación, se realizó mediante un proceso *in vitro* de digestión gastrointestinal estático, comprendido en tres fases: oral, gástrica e intestinal; en base al protocolo consensuado a nivel internacional por INFOGEST y publicado por Brodkorb *et al.* (2019). Este proceso consiste en la incorporación de tres fluidos simulados: salival (FSS), gástrico (FGS) e intestinal (FIS); a una muestra de alimento según la fase. La composición de estos fluidos es básicamente una mezcla homogénea de soluciones salinas (ej. KCl, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, NaCl, HCl) con agua purificada. Además de estos fluidos, se agregan también enzimas como la amilasa salival (75 U/mL), pepsina (2000 U/mL), pancreatina (100 U/mL), y sales biliares (100 Mm/L). Posteriormente, cada fase se digiere a un pH, temperatura, tiempo y rpm establecidos. Finalmente, las muestras obtenidas son centrifugadas, y a partir del sobrenadante se realiza la cuantificación de los MN (Figura 4).

<p><b>Preparación fluidos simulados</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparación de las soluciones salinas: KCl, <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math>, NaCl, <math>\text{MgCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6</math>, <math>(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3</math>, <math>\text{NaHCO}_3</math> y <math>\text{CaCl}_2</math>.</li> <li>• Preparación de los fluidos simulados: FSS, FGS y FIS.</li> </ul>
<p><b>Fase oral</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agregar: FSS + amilasa salival + <math>\text{CaCl}_2</math></li> <li>• pH: 7</li> <li>• Temperatura: <math>37^\circ\text{C}</math></li> <li>• RPM: 185</li> <li>• Tiempo: 2 min</li> </ul>
<p><b>Fase Gástrica</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agregar: FGS + pepsina + HCl + <math>\text{CaCl}_2</math></li> <li>• pH: 2</li> <li>• Temperatura: <math>37^\circ\text{C}</math></li> <li>• RPM: 130</li> <li>• Tiempo: 2 h</li> </ul>
<p><b>Fase intestinal</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agregar: FIS + NaOH + Sales biliares + pancreatina + <math>\text{CaCl}_2</math></li> <li>• pH: 7</li> <li>• Temperatura: <math>37^\circ\text{C}</math></li> <li>• RPM: 45</li> <li>• Tiempo: 2 h</li> </ul>
<p><b>Centrifugación</b></p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RPM: 10.000</li> <li>• Temperatura: <math>4^\circ\text{C}</math></li> <li>• Tiempo: 5 min</li> <li>• Analizar el sobrenadante</li> </ul>

**Figura 4. Proceso *in vitro* de digestión gastrointestinal estático**

A continuación, se detalla cada fase del proceso *in vitro* de digestión gastrointestinal:

#### **5.4.1 Preparación de los fluidos simulados**

Como se mencionó anteriormente, los fluidos simulados son una mezcla de soluciones salinas con agua purificada. Por lo tanto, lo primero que se prepararon fueron las soluciones salinas, en las concentraciones molares correspondientes. Posteriormente, para la preparación de los

fluidos simulados, se agregaron en un vaso precipitado las soluciones salinas y agua purificada, de acuerdo a la composición de cada fluido (Tabla 6). Luego, se procedió al mezclado de cada uno de ellos mediante agitación mecánica, a 300 rpm por 5 minutos.

**Tabla 6. Composición de los fluidos simulados en base a 500 mL de solución.**

Componentes	Concentración molar	FSS		FGS		FIS	
		mL	%	mL	%	mL	%
KCl	0,5	15,1	3,0	6,9	1,4	6,8	1,4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5	3,7	0,7	0,9	0,2	0,8	0,2
NaHCO <sub>3</sub>	1	6,8	1,5	12,5	2,5	42,5	8,5
NaCl	2	0	0	11,8	2,4	9,6	1,9
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	0,15	0,5	0,1	0,4	0,1	1,1	0,2
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,5	0,1	0,01	0,5	0,1	0	0
HCl	6	0,1	0,02	1,3	0,3	0,7	0,1
H <sub>2</sub> O purificada	—	473,8	94,8	465,7	93,1	438,5	87,7
<b>Total</b>		<b>500</b>	<b>100</b>	<b>500</b>	<b>100</b>	<b>500</b>	<b>100</b>

**Fuente:** Brodtkorb et al. (2019)

Una vez obtenidos los fluidos simulados, se realizó la simulación gastrointestinal de cada fase, para la cual se utilizaron las siguientes enzimas: amilasa (de páncreas de porcino, 13 U/mg de proteína, Sigma-Aldrich), pepsina (de mucosa gástrica de porcino, 250 U/mg de proteína, Sigma-Aldrich), pancreatina (de páncreas de porcino, 4 x USP, Sigma-Aldrich) y sales biliares (extracto de bilis porcina, Sigma-Aldrich). El procedimiento realizado, se detalla a continuación:

#### 5.4.2 Fase oral

Se agregaron 10 g de MP a un matraz con 100 mL de agua purificada, posteriormente se dividió la solución en tres muestras de 30 mL. A cada muestra se añadieron 21 mL de FSS a pH 7; 5,9 mL de agua purificada y 0,35 g de amilasa salival disuelta en 3 mL de FSS. Finalmente se



agregaron 0,2 mL de CaCl<sub>2</sub> y se colocaron las muestras en un baño termorregulado a 37 °C, manteniendo una agitación constante de 185 rpm durante 2 min.

#### 5.4.3 Fase gástrica

Se agregó a cada muestra 45 mL de FGS; 1,2 mL de HCl 1M; 1,8 mL de agua purificada y 0,96 g de pepsina disuelta en 2 mL de FGS. Finalmente se agregaron 0,03 mL de CaCl<sub>2</sub> y se ajustó el pH a 2 con HCl 1 N. Tras esto, se colocaron las muestras en un baño termorregulado a 37 °C, manteniendo una agitación constante de 130 rpm durante 2 horas.

#### 5.4.4 Fase intestinal

Se agregó a cada muestra 66 mL de FIS; 0,9 de NaOH 1N; 7,9 mL de agua purificada; 1,06 g de sales biliares disueltas en 15 mL de agua purificada y 0,5 g de pancreatina disuelta en 30 mL de FIS. Finalmente se agregaron 0,24 mL de CaCl<sub>2</sub> y se ajustó el pH a 7 con NaOH 1N. Posteriormente, se colocaron las muestras en un baño termorregulado a 37 °C, manteniendo una agitación constante de 45 rpm durante 2 horas.

#### 5.4.5 Centrifugación

Finalizada la fase intestinal, las muestras fueron centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min a una temperatura de 4 °C, para inactivar las enzimas. Posterior a ello, fueron realizados los análisis de MN a la fracción líquida de las muestras (sobrenadante). El porcentaje de bioaccesibilidad *in vitro* se determinó en base a, la relación entre la concentración del MN en el sobrenadante (MN<sub>f</sub>) y la concentración inicial del MN antes de pasar por el proceso de digestión (MN<sub>i</sub>).

$$\text{Bioaccesibilidad (\%)} = \frac{\text{MN}_f (\%)}{\text{MN}_i (\%)} \times 100\% \quad (\text{Ec. 9})$$

## 5.5 FORMULACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE LA CREMA INSTANTÁNEA DE LENTEJAS

Para la formulación de la crema instantánea de lentejas, se seleccionaron las MP con mayor bioaccesibilidad *in vitro*, por cada MN. Además de estas MP, se utilizaron harinas extruidas de legumbres y cereales (lentejas, arvejas, maíz, arroz) (LEMSA S.A, Chile) e ingredientes y aditivos (aceites vegetales en polvo, premix vitaminas y minerales, almidón de maíz, ajo y apio deshidratado, cebolla deshidratada, glutamato monosódico, colorante caramelo natural, terbutil hidroquinona) (Alfa Group, Chile). En el caso de las harinas extruidas, éstas se tamizaron a un tamaño de partícula entre 212 y 425  $\mu\text{m}$ , puesto que, este tamaño permitió obtener una mejor textura del alimento (mayor instantaneidad, menor viscosidad y menor cantidad de grumos). Para determinar las cantidades, se utilizó la herramienta solver de la planilla de Excel, considerando los requerimientos de MN para los alimentos del PACAM y el aporte nutricional de los ingredientes. Posteriormente, éstos se pesaron y mezclaron; utilizando una mezcladora escala laboratorio (Kitchenaid, modelo 5K45SSEWH, EE.UU.). El tiempo de mezclado, para asegurar una homogenización efectiva fue de 20 min.

Obtenida la crema de lentejas, ésta fue reconstituida (50 g de polvo en 200 mL de agua hervida) y se cuantificó la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN, utilizando el método de INFOGEST mencionado anteriormente.

## 5.6 CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CREMA DE LENTEJAS RECONSTITUIDA

- **Propiedades reológicas:** Se determinaron empleando un reómetro con geometría de cilindros concéntricos (Anton Paar, modelo C-PTD 180/AIR/QC, Austria) utilizando la sonda CC27/S a una temperatura de 60 °C por un tiempo de 3 min.
- **Índice de solubilidad:** Se realizó siguiendo la metodología utilizada para las MP.

- **Evaluación sensorial:** Se realizó una prueba de diferencias contra control (Anexo 1) entre la crema instantánea de lentejas y la crema instantánea de lentejas del PACAM, mediante un panel entrenado. Se evaluaron las siguientes características sensoriales: color, consistencia con cuchara, olor característico, cantidad de grumos, consistencia bucal, sabor general, sabor característico y facilidad para tragar, mediante una escala de -5 a +5, en que 0 es igual al control, -5 es mucho menos intenso y +5 mucho más intenso que el control. Además de ello, se calificó el control y la muestra en cuanto a la presencia de sabores extraños, en una escala de 0 a 5, en donde 0 es ausente y 5 muy intenso. Esta evaluación sensorial se realizó con un panel de 11 jueces con conocimiento y experiencia en evaluación sensorial, en el Laboratorio de Evaluación Sensorial de la Facultad de Ciencias Química y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

## 5.7 CUANTIFICACIÓN DE LOS MN

Las cuantificaciones de los MN fueron realizadas por el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA) de la Universidad de Chile.

La cuantificación de vitamina D<sub>3</sub> se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) acoplada a detectores de arreglo de diodos (DAD) y ultravioleta (UV) según la metodología propuesta por el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, en el libro Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Este método consiste en la saponificación de una muestra con hidróxido de potasio acuoso y etanol, seguido de la extracción de la vitamina con hexano. Posteriormente, la cuantificación del MN se realiza mediante HPLC de fase normal semipreparativa, seguida por HPLC de fase reversa analítica, con detector UV. En la Tabla 7, se muestran las condiciones de operación.

**Tabla 7. Condiciones de los sistemas de cromatografía**

<b>Sistema de fase normal semipreparativo</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Flujo: 0,5 mL/min</li><li>- Detector: DAD</li><li>- Fase móvil n-hexano: 2-propanol (95:5)</li><li>- Volumen de inyección muestra: 90 µL</li><li>- Longitud de onda: 265 nm</li><li>- Temperatura del horno: 40 ± 1 °C</li><li>- Columna analítica Inertsil</li></ul>
<b>Sistema de fase reversa</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Flujo: 0,8 mL/min</li><li>- Detector: UV</li><li>- Fase móvil Acetonitrilo: metanol (91:9)</li><li>- Volumen de inyección: 50 µL</li><li>- Longitud de onda: 265 nm</li><li>- Temperatura del horno: 40 ± 1 °C</li></ul>

**Fuente:** INTA, 2019

La cuantificación del hierro y calcio se realizó mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica (AOAC, Official Method 985.35), basado en la destrucción de la materia orgánica mediante su calcinación en una mufla a 450 °C, seguido de la disolución en HNO<sub>3</sub> (65%) de las cenizas. Posteriormente, el MN se determina por espectrofotometría de absorción atómica. En la Tabla 8, se muestran las condiciones instrumentales.

**Tabla 8. Condiciones instrumentales**

	<b>Hierro</b>	<b>Calcio</b>
<b>Longitud de onda (nm)</b>	248,3	422,7
<b>Rendija (nm)</b>	0,2	0,7
<b>Intensidad de lámpara (mA)</b>	30	10
<b>Nebulizador</b>	Bola de impacto	Spoiler

**Fuente:** INTA, 2019

## 5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la evaluación sensorial los valores se presentaron usando los intervalos de confianza al 95%, para determinar si la muestra se diferencia significativamente del control en cada característica sensorial.

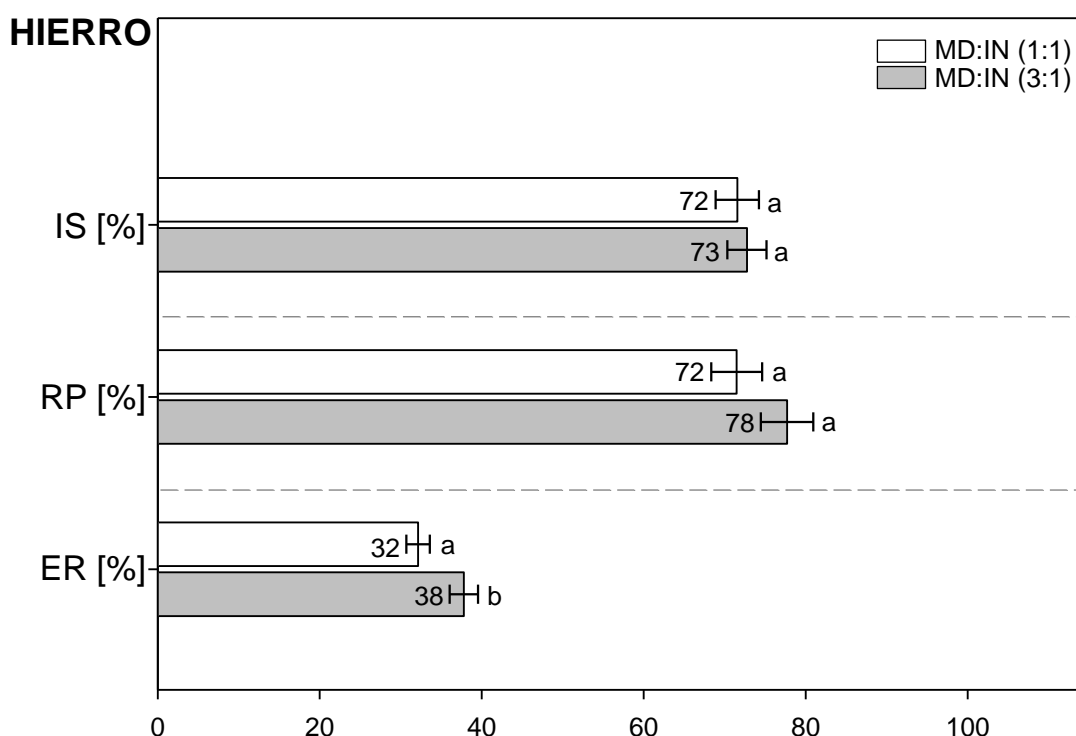
Respecto a los demás análisis, éstos se realizaron por triplicado, y los valores se presentaron en forma de valores medios ( $\bar{X}$ ) y sus desviaciones típicas (S), con un nivel de confianza del 95%. Además de ello, las evaluaciones se efectuaron con el software Statgraphics Centurion XVIII, a partir del test ANOVA y utilizando la prueba LSD como método de comparaciones múltiples.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS MP CON INCORPORACIÓN DE HIERRO

El hierro se microencapsuló a partir de dispersiones elaboradas con MD e IN. A diferencia de las emulsiones, para este caso no se utilizó CA, puesto que, la fracción de calcio de esta proteína podría interactuar con el hierro formando complejos insolubles, disminuyendo así su bioaccesibilidad *in vitro* (Rosa, 2017).

En la Figura 5 se muestran los promedios de la caracterización fisicoquímica de las MP con hierro, obtenidas con MD e IN en las relaciones 1:1 y 3:1.



**Figura 5. Caracterización fisicoquímica de las MP con hierro (letras diferentes muestran diferencias significativas)**

El IS debe ser lo más bajo posible, pues se requiere que el hierro se libere en el tracto digestivo del AM, y no al contacto de las MP con el agua durante la preparación del alimento. Frente a esto, las MP elaboradas con MD:IN (1:1) presentaron un IS 1% menos que las demás MP, sin

embargo; esta diferencia no fue significativa ( $p>0,05$ ). Por otro lado, independientemente de la relación de encapsulantes, todas las MP presentaron el IS superior al 70%, puesto que esta característica estuvo definida por la maltodextrina, la cual posee una alta solubilidad en medio acuoso (Coronel, 2015).

Respecto al RP, el proceso fue exitoso ya que superó el 70% (Sahin-Nadeem y Özen, 2014). Además de ello, las MP con MD:IN (3:1) presentaron un incremento en el RP del 6% respecto a las demás MP ( $p>0,05$ ). En general, los resultados obtenidos fueron superiores a los presentados por otros autores, los cuales obtuvieron porcentajes de rendimiento inferiores al 55%, para MP de hierro desarrolladas sólo con maltodextrina (Rocha, 2016; Churio y Valenzuela, 2018).

La ER, es la característica más importante, ya que existe una relación directa entre la ER y la bioaccesibilidad (Haro, 2006). Las MP con MD:IN (3:1) presentaron el porcentaje más alto de ER (38%), superando en un 6% a las demás ( $p<0,05$ ). Por otro lado, los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Moslemi *et al.* (2014), para MP de hierro obtenidas por el mismo método.

Cabe destacar que, se han realizado diversos estudios sobre la encapsulación de varios tipos de hierro (ej. sulfato, fumarato) con diferentes mezclas de encapsulantes (ej. alginato de sodio, goma arábica) y diferentes métodos (ej. secado por atomización, gelificación iónica), teniendo como objetivo mejorar la bioaccesibilidad de este MN y a la vez enmascarar su sabor metálico (Hernández, 2015; Durán *et al.*, 2017; Andrade, 2018); sin embargo, hasta la fecha no hay estudios sobre el sulfato ferroso encapsulado con mezcla de MD:IN.

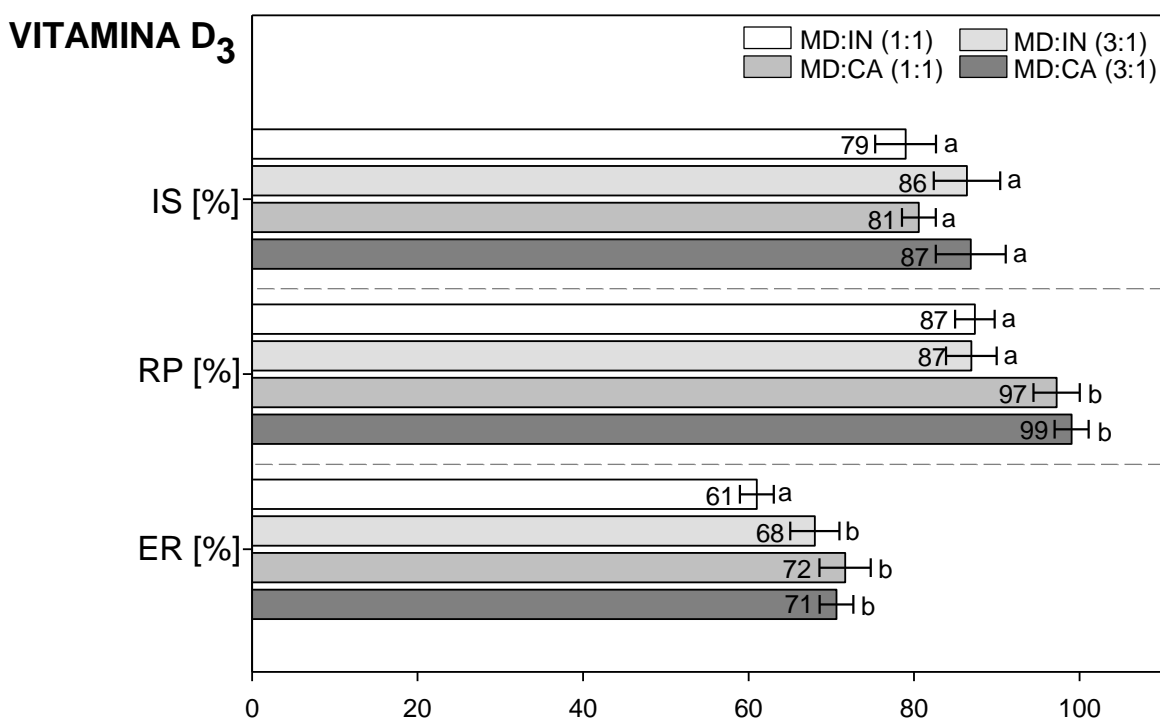
## **6.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS MP CON INCORPORACIÓN DE VITAMINA D<sub>3</sub> Y CALCIO**

La vitamina D<sub>3</sub> y el calcio se microencapsularon a partir de emulsiones de aceite en agua (O/W), utilizando como emulsificante Tween 80, con el objetivo de disminuir la tensión interfacial para estabilizar cinéticamente la emulsión (McClements *et al.*, 2009). El calcio estaba contenido en

una emulsión con el fin de disminuir significativamente su IS respecto a las MP con hierro. La diferencia en los IS de ambas MP permite evitar la interacción de calcio con hierro, la que podría disminuir la bioaccesibilidad *in vitro* de ambos MN (Rosa, 2017). En el caso de la vitamina D<sub>3</sub>, debido a su liposolubilidad, se microencapsuló a partir de emulsiones, incorporando el MN en la fase lipídica (Gironés-Vilaplana, 2017).

### 6.2.1 MP con incorporación de vitamina D<sub>3</sub>

En la Figura 6 se muestran los promedios del IS, RP y ER de las MP de vitamina D<sub>3</sub>, elaboradas con distintas proporciones de MD, IN y CA.



**Figura 6. Caracterización fisicoquímica de las MP con vitamina D<sub>3</sub> (letras diferentes muestran diferencias significativas)**

Los porcentajes de IS varían de 79% a 87%, cuanto menor es la concentración de MD en la relación MD:IN y MD:CA, el IS disminuye en 7% y 6% respectivamente; sin embargo, esta disminución no es significativa ( $p > 0,05$ ). Como se indicó anteriormente, al ser la MD el encapsulante con mayor solubilidad, las MP que tengan menor proporción de esta tendrán menor IS, por otro lado, pese a tener menor solubilidad la IN y CA que la MD, la proporción



de estos agentes en las relaciones MD:IN y MD:CA, no fue la suficiente como para que se produzcan variaciones significativas en el IS (Ferrandini *et al.*, 2016).

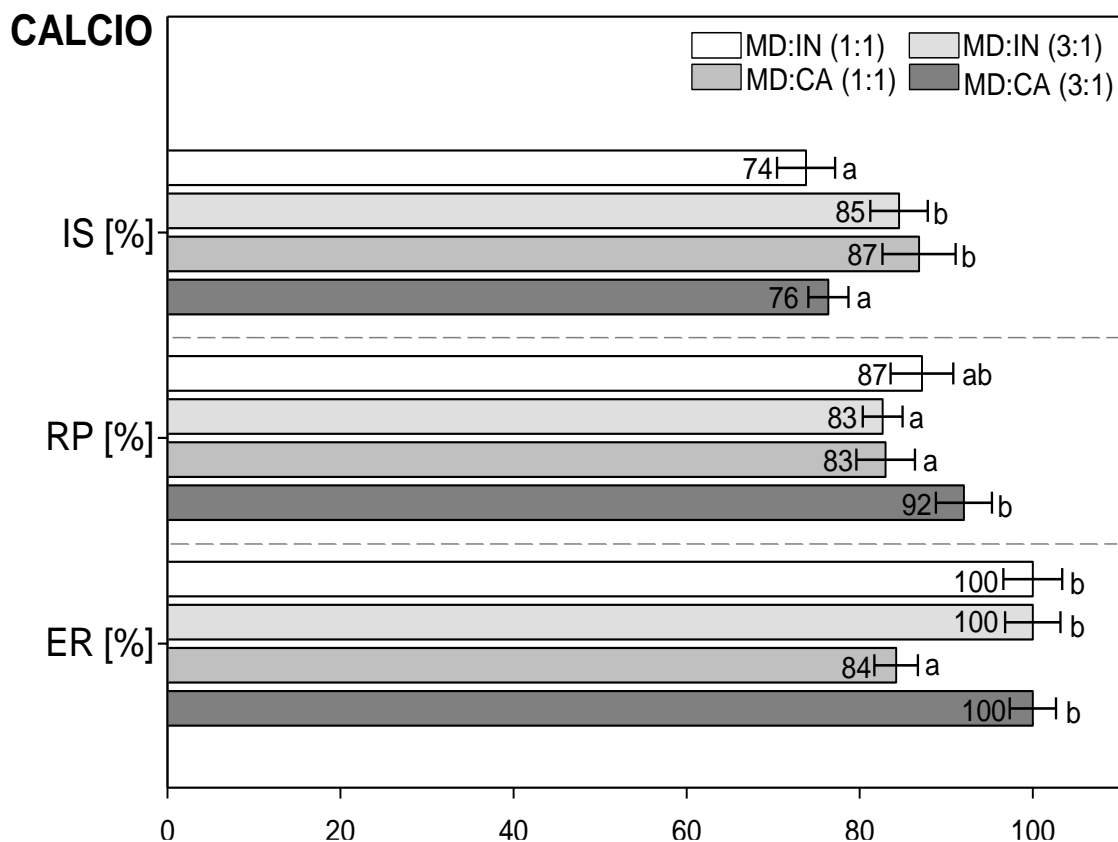
Respecto al RP, las MP elaboradas con MD:CA (1:1) y MD:CA (3:1), incrementaron significativamente ( $p < 0,05$ ) esta característica en un 10% y 13%, respectivamente, en comparación a las MP con MD:IN (1:1) y MD:IN (3:1). Por otro lado, todas las MP tuvieron porcentajes mayores al 80%, obteniendo las MP con MD:CA (3:1) el mayor porcentaje (99%), esto debido a que, el secado por atomización permite obtener altos rendimientos del proceso (Fernández *et al.*, 2013). Además de ello, el Tween 80 y la homogenización aplicada, disminuyeron la tensión interfacial y el tamaño de las partículas de las emulsiones, por ende, se generaron emulsiones altamente estables, lo cual disminuyó la adherencia de sólidos en la superficie del secador, reduciendo pérdidas (McClements, 2010; López *et al.*, 2009; Arteaga y Arteaga, 2016).

La ER, presentó valores entre 61% y 72%, siendo el porcentaje más bajo para las MP con MD:IN (1:1), las cuales disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) en 7%, 11% y 10% en comparación a las MP con MD:IN (3:1), MD:CA (1:1) y MD:CA (3:1), respectivamente. Por otro lado, los porcentajes más altos fueron para las MP con MD:CA (1:1) y MD:CA (3:1). Si bien estos porcentajes no fueron superiores al 80%, los resultados fueron los esperados, puesto que existía la posibilidad de la degradación de este MN debido a la alta temperatura del proceso de secado por atomización (Jakobsen y Knuthsen, 2014).

Es importante mencionar que, existen investigaciones limitadas en cuanto al desarrollo de micropartículas con vitamina D<sub>3</sub> mediante secado por atomización, además de ello, el encapsulante mayormente utilizado en este método es la MD en combinación con goma arábica, proteínas o mucílagos y en algunos casos proteínas como los sueros o caseinatos, siendo este último una buena alternativa para mejorar la bioaccesibilidad de la vitamina D<sub>3</sub>, motivo por el cual decidimos usarlo (Cardoso, 2016; Jannasari *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2020; Maurya *et al.*, 2020).

### 6.2.2 MP con incorporación de calcio

En la Figura 7 se observan las características fisicoquímicas (IS, RP y ER) de las MP con calcio, elaboradas con distintas proporciones de MD, IN y CA.



**Figura 7. Caracterización fisicoquímica de las MP con calcio (letras diferentes muestran diferencias significativas)**

Los porcentajes del IS varían entre 74% y 87%, teniendo el porcentaje más bajo las MP con MD:IN (1:1). Además de ello, estas MP presentaron un IS del 11% más bajo que las MP con MD:IN (3:1), siendo esta reducción significativa ( $p < 0,05$ ). Caso contrario, la combinación de este MN con MD:CA (1:1) aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) el IS en un 11%, respecto a las MP con MD:CA (3:1). Respecto a lo anterior, para todos los casos la proporción de MD tuvo un efecto significativo en el IS, debido a la alta solubilidad, otorgada por sus grupos OH que forman puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, hidratándose y formando moléculas esféricas al mezclarse (López *et al.*, 2009). Cabe indicar que, como se mencionó

anteriormente, se realizaron MP con calcio a partir de emulsiones para obtener IS menores a las de las MP con hierro, evitando de esa forma interacciones calcio-hierro, al momento de su liberación, que puedan afectar la bioaccesibilidad *in vitro* de ambos MN; sin embargo, la cantidad de fase lipídica (aceite maravilla) empleada, probablemente no fue la suficiente para lograr el objetivo.

En cuanto al RP, para todas las MP se obtuvieron altos porcentajes (> 80%), y la MP con MD:CA (3:1) obtuvo el valor más alto (92%). Se observó que el uso combinado de calcio con MD:IN (1:1) y MD:CA (3:1) incrementa significativamente ( $p < 0,05$ ) el RP, en un 4% y 9% respecto a las MP con MD:IN (3:1) y MD:CA (1:1), respectivamente. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por distintos autores, puesto que, uno de los parámetros que afecta directamente el RP es la temperatura, por ende, a temperaturas altas ( $\geq 130$  °C) se obtienen mayores RP, debido a la reducción de la  $a_w$  de las MP, evitando que estas se adhieran a las paredes del secador (Estevinho *et al.*, 2015).

La ER, está influenciada por la relación encapsulante:material activo y por el tipo de material (Porras *et al.*, 2015; Turchiuli *et al.*, 2014). Respecto a esto, Mahdavi *et al.* (2016), indican que la relación más eficiente del encapsulante:material activo en general es del 25%. Por otro lado, Fredes *et al.* (2018), encontraron que la eficiencia de la encapsulación aumenta, al aumentar la relación encapsulante:material activo. Si bien para este estudio se utilizó una relación de encapsulante:material activo solo del 20%, se obtuvieron altos porcentajes de eficiencia superando el 80% para las MP con MD:CA (1:1) y llegando a 100% para las demás MP.

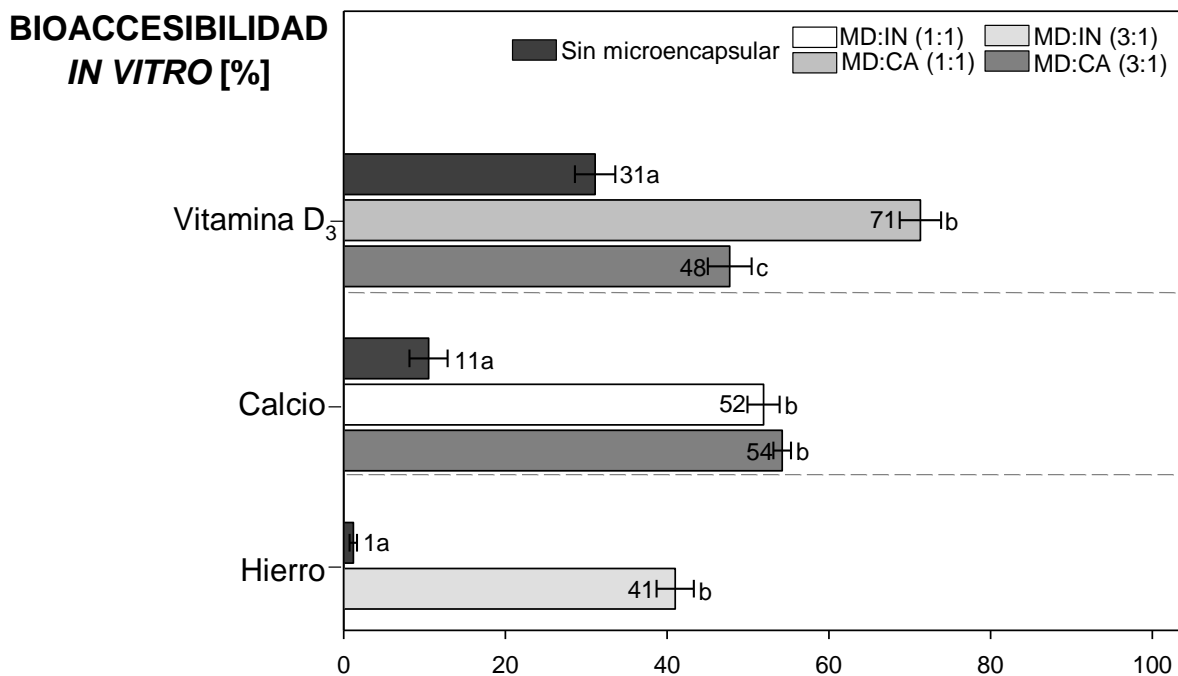
### **6.3 BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE MN EN LAS MP**

Posterior a la caracterización fisicoquímica de las MP, se calcularon los puntajes finales para cada una de ellas, considerando el puntaje ponderado de cada característica: 40, 10 y 50 puntos para el IS, R y ER, respectivamente. Los dos puntajes más altos para la vitamina D<sub>3</sub> y calcio, y el puntaje más alto para hierro fueron seleccionados para determinar la bioaccesibilidad *in vitro* de los MN (Tabla 9). Los resultados de los porcentajes de bioaccesibilidad de las MP seleccionadas y de los MN puros se muestran en la Figura 8.

**Tabla 9. Puntajes finales de las MP**

Micropartículas	Relación de encapsulantes	Puntaje final	Seleccionadas
Vitamina D <sub>3</sub>	MD:IN (1:1)	89,10	MD:CA (1:1) MD:CA (3:1)
	MD:IN (3:1)	94,01	
	MD:CA (1:1)	95,34	
	MD:CA (3:1)	96,25	
Calcio	MD:IN (1:1)	93,83	MD:IN (1:1) MD:CA (3:1)
	MD:IN (3:1)	92,15	
	MD:CA (1:1)	85,73	
	MD:CA (3:1)	93,12	
Hierro	MD:IN (1:1)	92,51	MD:IN (3:1)
	MD:IN (3:1)	97,71	

Fuente: Elaboración propia



**Figura 8. Bioaccesibilidad *in vitro* de los MN sin microencapsular y las MP seleccionadas (letras diferentes muestran diferencias significativas)**

Los porcentajes de bioaccesibilidad *in vitro* obtenidos para los MN sin microencapsular, fueron del 31%, 11% y 1% para la vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro respectivamente. Por otro lado, estos porcentajes se incrementaron significativamente ( $p < 0,05$ ) en los MN microencapsulados, superando el 50% para la vitamina D<sub>3</sub> y el calcio, y el 40% para el hierro.

Respecto a la vitamina D<sub>3</sub>, el porcentaje más alto de bioaccesibilidad *in vitro* fue para las MP con MD:CA (1:1), llegando al 71%. Probablemente, la concentración de calcio (~9%) del caseinato interactuó con la vitamina D<sub>3</sub>, permitiendo obtener una mayor bioaccesibilidad *in vitro*, respecto a las MP de vitamina D<sub>3</sub> encapsuladas sin ninguna fracción de calcio (Heaney, 2008; Trautvetter *et al.*, 2014). Por otro lado, se observó que al aumentar la proporción de MD de 1 a 3, el porcentaje de bioaccesibilidad *in vitro* disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) en un 23%. Esta disminución se le atribuye a la mayor proporción de MD que tienen estas MP, por ende, presentan un mayor IS, generando que la MP se solubilice en la fase gástrica, liberando parcialmente el MN (Porter *et al.*, 2007; Churio y Valenzuela, 2018;). De igual forma, el caseinato de calcio en la misma fase se hidrolizó parcialmente con la presencia de la pepsina (Chang y McClements, 2016; Tan *et al.*, 2019). Si bien, hubo liberación del MN antes de llegar a la fase intestinal, ésta no fue considerable, puesto que, se obtuvieron altos porcentajes de bioaccesibilidad *in vitro*, por lo tanto, la interacción electrostática MD:CA logró formar una pared óptima para proteger al MN (Qiu *et al.*, 2017).

En cuanto al calcio, el porcentaje más alto de bioaccesibilidad *in vitro* (54%) se obtuvo para las MP con MD:CA (3:1), las cuales difirieron en 2% respecto a las MP con MD:IN (1:1); sin embargo, esta diferencia no fue significativa ( $p > 0,05$ ). Para esta última matriz se esperaba un porcentaje más alto de bioaccesibilidad *in vitro*, puesto que, la IN estimula la absorción de los minerales y tiene la capacidad de pasar el tracto digestivo sin ser digerida. Lo mencionado anteriormente, posiblemente se debe a que el grado de hidrólisis de este biopolímero en el ambiente gástrico, mediante la liberación de fructosa, no fue tan bajo como lo que se esperaba, por otro lado, la MD posiblemente también se hidrolizó de forma parcial en el mismo ambiente lo que generó tasas más altas de liberación del MN, por ende, porcentajes más bajos de bioaccesibilidad *in vitro* (Ricca y Calabrò, 2007; Schrezenmeir y Scholz, 2007; Tahereh y Rehmann, 2014; Rastall y Gibson, 2015; Shoaib *et al.*, 2016). Además de ello, la matriz MD:CA

(1:1) fue ligeramente más eficiente, ya que mostraron mayor resistencia a la pepsina (Sancho *et al.*, 2017). No se encontraron estudios realizados acerca de la bioaccesibilidad de este mineral encapsulado con MD, IN o CA.

La microencapsulación de hierro permite enmascarar el sabor metálico que presenta este MN, ya que los materiales encapsulantes forman una pared, previniendo el contacto directo entre el hierro y los receptores gustativos (Durán *et al.*, 2107). Además de ello, reduce su interacción con los demás componentes del alimento aumentando su bioaccesibilidad en el duodeno del intestino delgado (Gharibzahedi y Jafari, 2017). Para este estudio la forma de hierro que se utilizó fue el sulfato de hierro, el cual presentó un porcentaje de bioaccesibilidad *in vitro* del 41% al tener como encapsulantes MD:IN (3:1). La hidrolización del complejo MD:IN en la fase gástrica, debido a la acción de la pepsina y ácido clorhídrico, permitió la liberación de MN, el cual posiblemente interactuó con otros compuestos haciéndose insoluble, lo que explicaría la disminución del porcentaje de bioaccesibilidad (Malgorzata *et al.*, 2019).

#### 6.4 FORMULACIÓN Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE LA CREMA INSTANTÁNEA DE LENTEJAS

Para la formulación del alimento, se seleccionaron las MP que presentaron el mayor porcentaje de bioaccesibilidad *in vitro* para cada MN (Tabla 10).

**Tabla 10. MP finalistas para la formulación de la crema de lentejas**

<b>Micronutriente</b>	<b>Relación entre encapsulantes</b>	<b>Bioaccesibilidad (%) X ± DE</b>
Vitamina D <sub>3</sub>	MD:CA (1:1)	71 ± 3
Calcio	MD:CA (3:1)	54 ± 2
Hierro	MD:IN (3:1)	41 ± 2

**Fuente:** Elaboración propia

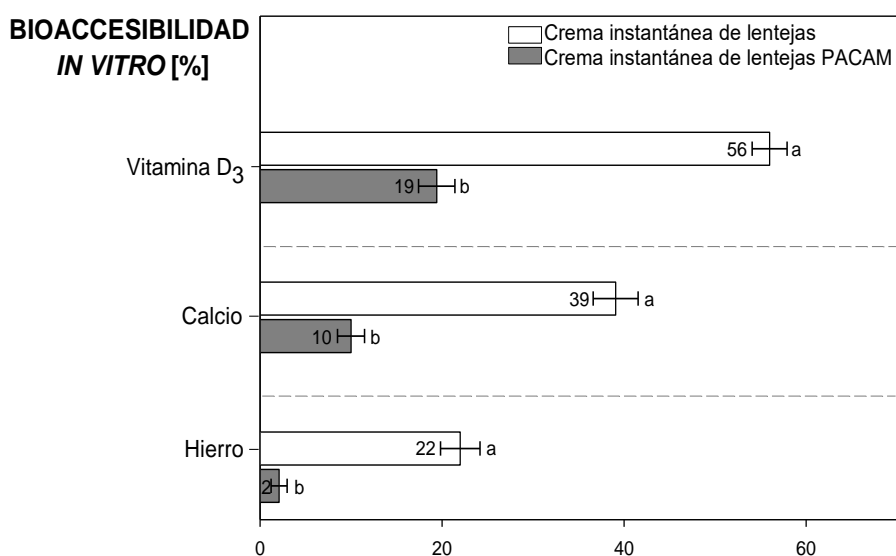
Se procedió a formular el alimento a partir de la mezcla y homogenización de harinas extruidas de legumbres y demás ingredientes y aditivos, incluyendo el mix de las MP finalistas (Tabla 11), cumpliendo de esta forma con el aporte de vitaminas y minerales exigidos por el PACAM.

**Tabla 11. Formulación de la crema de lentejas**

INGREDIENTES Y ADITIVOS	PORCENTAJE (%)
Harina de lentejas extruida	30,0
Harina de arvejas extruida	10,0
Harina de maíz extruida	28,1
Harina de arroz extruida	14,1
Aceites vegetales (maravilla, alto oleico, palma y soja)	7,0
Premix de vitaminas (A, B <sub>1</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , folato, C, E) y minerales (magnesio, fosforo, zinc)	1,5
Premix MP (vit. D <sub>3</sub> , calcio y hierro)	0,5
Almidón de maíz	4,5
Ajo, apio deshidratado	1,0
Cebolla deshidratada	2,0
Glutamato monosódico (acentuador del sabor)	1,1
Colorante caramelo natural	0,2
Terbutil hidroquinona N° SIN 319 (antioxidante)	0,002
<b>Total</b>	<b>100</b>

**Fuente:** Elaboración propia

Posteriormente, la crema instantánea de lenteja desarrollada y la crema instantánea de lentejas del PACAM fueron reconstituidas y sometidas a la simulación gastrointestinal. Los porcentajes de bioaccesibilidad *in vitro* se muestran en la Figura 9.



**Figura 9. Bioaccesibilidad *in vitro* de la crema de lentejas instantánea desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM**

Los resultados demuestran que los porcentajes de bioaccesibilidad *in vitro* de los MN en la crema de lentejas formulada en el presente trabajo, fueron significativamente mayores ( $p < 0,05$ ), que los porcentajes obtenidos por la crema de lentejas del PACAM. Posiblemente se deba a la protección que ejercen las paredes de las MP sobre los MN, impidiendo que interactúen con los otros ingredientes o los otros MN. En este caso, la principal sustancia inhibidora de la absorción de minerales, que se encuentra en el alimento, es el ácido fítico aportado por las harinas de legumbres y cereales utilizadas, el cual puede quelar fuertemente con calcio y hierro para formar compuestos insolubles que podrían reducir la bioaccesibilidad *in vitro* de éstos (King et al., 2000; Zhou y Erdman, 2009; Wua et al., 2018). Además, las relaciones molares máximas deseadas de fitato:calcio, fitato:hierro son 0,17 y 1,0, respectivamente, cuando las relaciones molares son más altas la bioaccesibilidad *in vitro* se reduce severamente (Hurrell, 2004; Umeta et al., 2005; Lazarte et al., 2015). Por otro lado, el hierro es un inhibidor de la bioaccesibilidad del calcio; sin embargo, al estar ambos microencapsulados posiblemente se evitó esta interacción (Hemalatha, et al., 2007; Ahmed et al., 2014).

Por último, indicar que la crema del PACAM tiene en su composición 30% de harina de trigo y 2% de salvado de trigo, ambos ingredientes actúan como inhibidores de la bioaccesibilidad de minerales, puesto que, están compuestos por celulosa, hemicelulosa, pectinas, o lignina, los cuales pueden formar complejos insolubles con el calcio o hierro, reduciendo la bioaccesibilidad *in vitro* de estos MN, lo que explicaría los porcentajes tan bajos de bioaccesibilidad *in vitro* obtenidos (Hemalatha et al., 2007; Zuleta, 2013; Saini, 2016). Es por ello que, en la crema de lentejas desarrollada se sustituyó la harina de trigo por harinas de maíz y arroz que contienen menor cantidad de inhibidores de MN, y además de ello no se agregó salvado de trigo, por lo cual, se obtuvieron porcentajes de bioaccesibilidad *in vitro* de MN más altos.



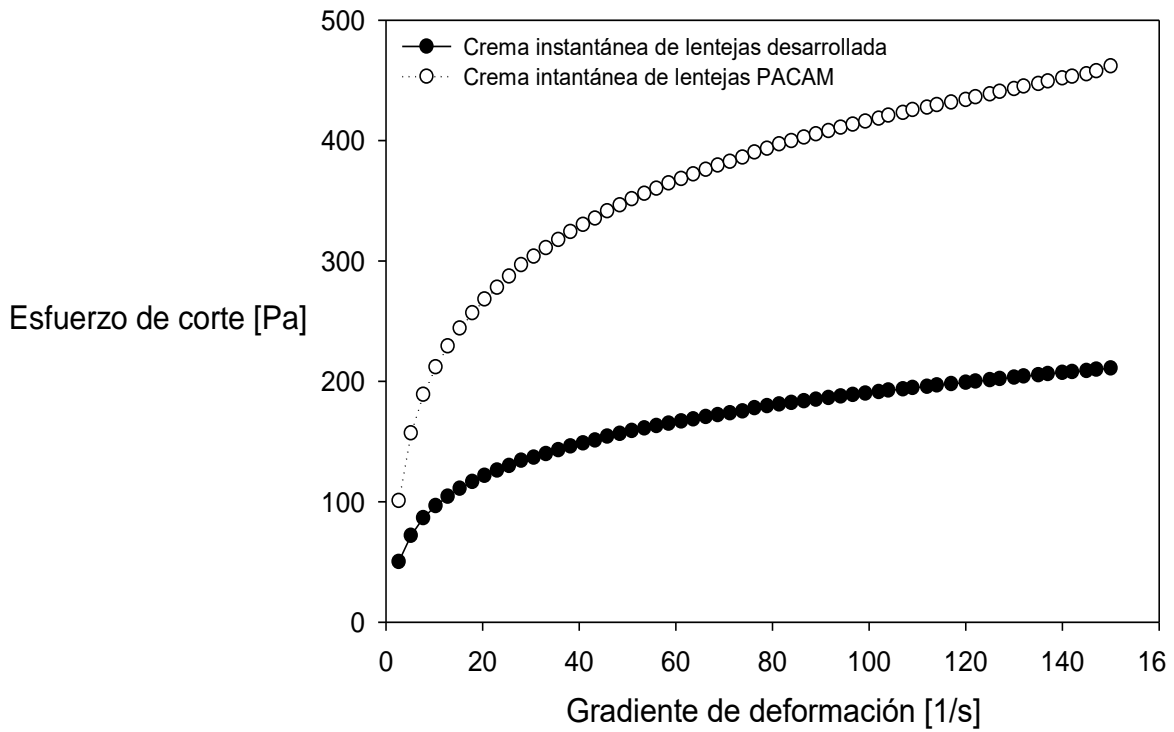
## **6.5 CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CREMA DE LENTEJAS RECONSTITUIDA**

### **6.5.1 Viscosidad aparente**

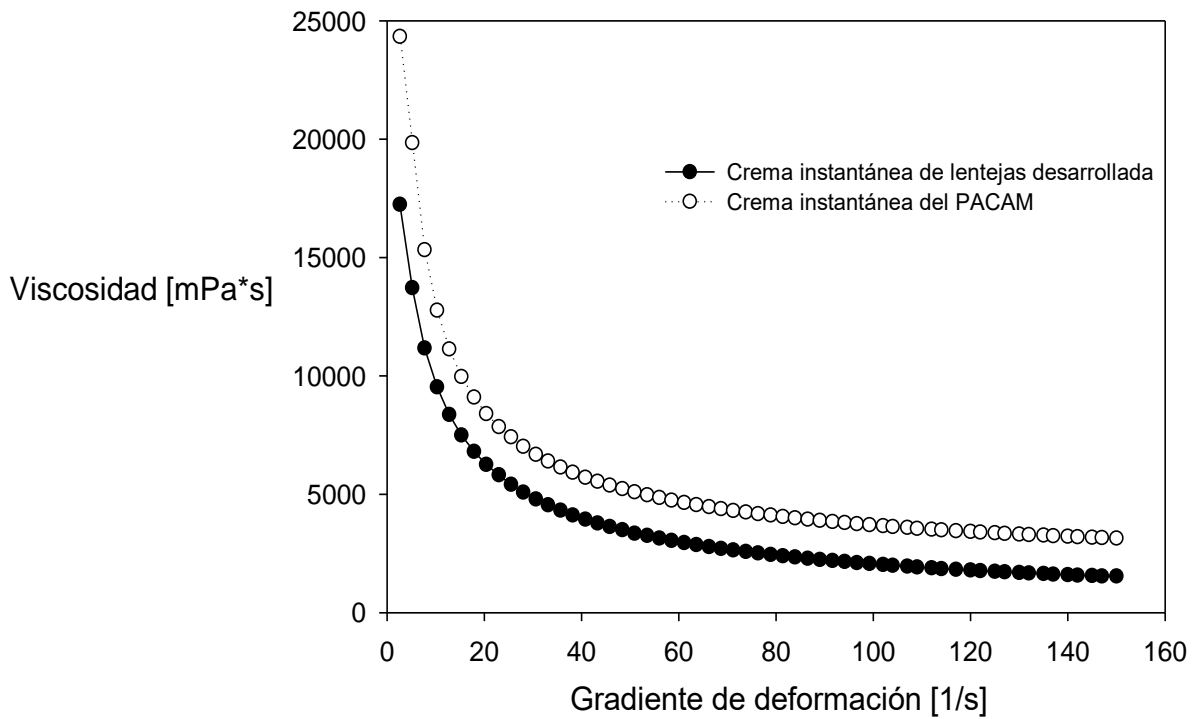
La viscosidad es una propiedad física, que se puede definir como la resistencia que ofrecen los fluidos a ser deformados cuando son sometidos a un esfuerzo (Ramírez, 2006; Méndez, Pérez y Paniagua, 2010).

Para la industria alimentaria es de vital importancia conocer la viscosidad de un producto, ya que permite llevar un control de calidad en las características fisicoquímicas de éste, en todo su proceso de producción, desde el inicio de la transformación hasta la obtención del producto final (Ahmed, Ptaszek y Basu, 2017; Galán, 2018). Por otro lado, conocer la viscosidad ayuda a mejorar la satisfacción del consumidor, ya que esta propiedad afecta significativamente el desplazamiento de un alimento durante la deglución (Hanson, O'Leary y Smith, 2012).

En la Figura 10, se muestra el reograma obtenido para la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM. Como se observa, en ambos alimentos la relación entre el esfuerzo de corte y la gradiente de deformación no es lineal, por lo tanto, son fluidos no newtonianos. Además de ser fluidos no newtonianos, presentan un comportamiento de un fluido pseudoplástico, ya que su viscosidad aparente disminuye a medida que la gradiente de deformación aumenta (Figura 11) (Méndez, Pérez y Paniagua, 2010).



**Figura 10. Reograma de la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM**



**Figura 11. Viscosidad aparente de la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas PACAM**

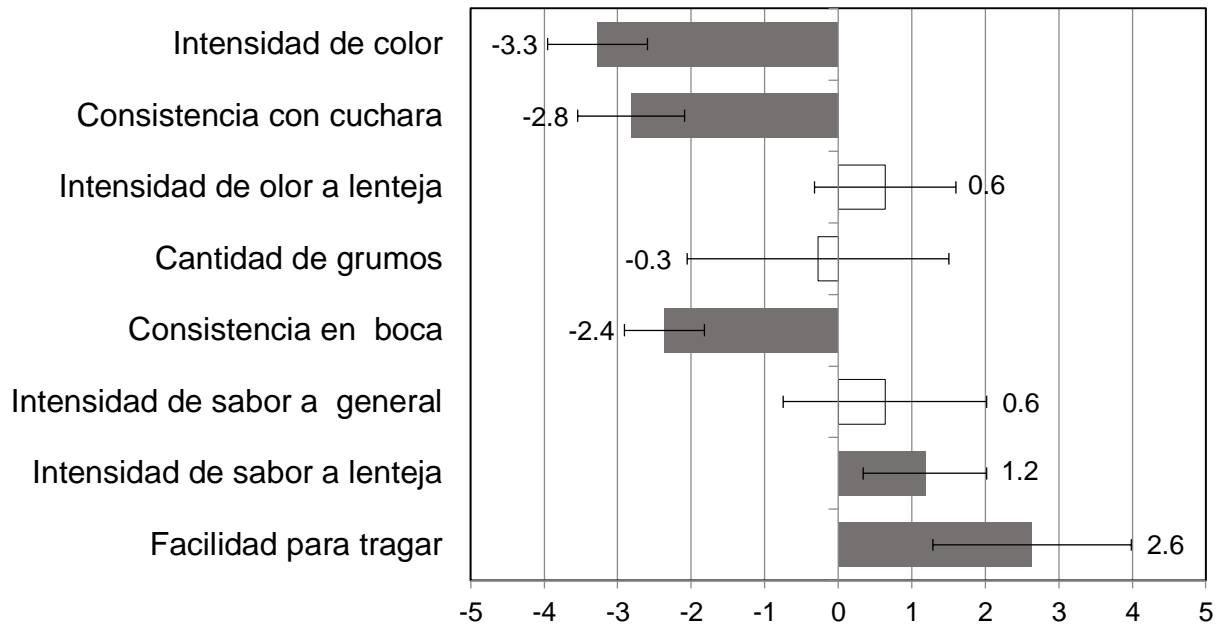
Como se indicó anteriormente, la viscosidad afecta significativamente el desplazamiento de un alimento durante la deglución, en este sentido al ser la crema instantánea de lentejas un alimento para el adulto mayor, es importante conocer su viscosidad aparente, debido a que el trastorno de deglución llamado disfagia, es muy común en este grupo etario, por ende, la consistencia del alimento debe ser la adecuada. Frente a esto, la percepción humana de la consistencia está relacionada a la viscosidad aparente en la gradiente de deformación de  $60 \text{ s}^{-1}$  (Steffe, 1996; citado por Martínez, 2002). Respecto a lo anterior, la crema instantánea de lentejas desarrollada presentó una viscosidad aparente de 2954 cP, a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  que es la temperatura de consumo, la cual fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que la crema instantánea de lentejas PACAM (4645 cP).

### **6.5.2 Índice de solubilidad**

El índice de solubilidad en agua de la crema instantánea de lentejas PACAM fue del 2%, esta característica en la crema instantánea de lentejas desarrollada incrementó significativamente ( $p < 0,05$ ) al 29%. Las diferencias entre estos valores, se deben principalmente a las propiedades de los ingredientes presentes en cada alimento y su capacidad de rehidratación (Aro y Calsin, 2019). Respecto a esto, el valor obtenido concuerda con lo señalado por Vasanthan (2001), quien manifiesta que las harinas extruidas tienen una buena solubilidad, debido a la pre gelatinización de los gránulos de almidón, lo que provoca la pérdida del orden molecular y la completa degradación de los polímeros con la formación de fragmentos altamente solubles.

### **6.5.3 Evaluación sensorial**

En la Figura 12, se muestran los promedios de los jueces obtenidos para cada característica sensorial. Además de ello, las diferencias significativas entre la crema instantánea de lentejas desarrollada y la crema instantánea de lentejas del PACAM, respecto a las características sensoriales evaluadas.



**Figura 12. Prueba de diferencias contra control entre la crema instantánea de lentejas desarrollada (muestra) y la crema instantánea PACAM (control). El color gris indica diferencia significativa entre la muestra y el control.**

Los resultados muestran que la crema instantánea de lentejas desarrollada es significativamente ( $p < 0,05$ ) más clara que la crema instantánea de lentejas del PACAM y menos consistente con cuchara y en boca. Por otro lado, presenta más sabor a lenteja y es más fácil de tragar que la crema instantánea de lentejas del PACAM.

Como se indicó anteriormente, la crema instantánea de lentejas desarrollada presentó una viscosidad aparente menor a la crema instantánea de lentejas PACAM y un porcentaje de índice de solubilidad mayor; esto se vio reflejado en los resultados de la evaluación sensorial en el cual el alimento desarrollado presentó una menor consistencia y una mayor facilidad para tragar.

Respecto a los sabores extraños, en ambos alimentos fueron percibidos en baja intensidad, en la muestra con una intensidad de 1,0 y en el control con una intensidad de 1,5; en una escala de 0 a 5. El sabor extraño más percibido en la muestra fue cocido (6 jueces) y los sabores extraños más percibidos en el control fueron crudo (6 jueces), amargo (5 jueces) y metálico (5 jueces).

## VII. CONCLUSIONES

- La relación y tipo de encapsulante no afectaron significativamente el índice de solubilidad para ninguna de las MP, obtenidas mediante secado por atomización. En cuanto al rendimiento, éste se vio influenciado solo para las MP de calcio, incrementando esta característica en un 10% en las relaciones y tipo de encapsulantes MD:CA (1:1) y MD:CA (3:1). Del mismo modo, se observó un efecto significativo en la eficiencia de retención, la cual incrementó en un 6% en la relación MD:IN (3:1) para las MP de hierro, 7% en la relación MD:IN (3:1) para las MP de vitamina D<sub>3</sub> y 16% en la relación MD:CA (3:1) para las MP de calcio.
- El secado por atomización permitió obtener MP de vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro, con porcentajes de bioaccesibilidad mayores al 40%, respecto a los MN sin encapsular.
- La adición de MP a la formulación de la crema instantánea de lentejas, permitió incrementar en un 37%, 29% y 20% la bioaccesibilidad de vitamina D<sub>3</sub>, calcio y hierro, respectivamente; respecto a la crema instantánea de lentejas PACAM.
- La viscosidad aparente de la crema instantánea de lentejas desarrollada, disminuyó en un 36% respecto a la crema instantánea de lentejas PACAM. De igual manera, su índice de solubilidad incrementó a 29%, respecto al 2% del alimento PACAM.
- Al realizar la comparación sensorial se logró obtener una crema significativamente menos espesa (con cuchara y en boca), con más sabor a lenteja y más fácil de tragar respecto a la crema de lentejas del PACAM.
- La utilización de MN encapsulados mediante secado por atomización, en el desarrollo de alimentos, permite mejorar la bioaccesibilidad de los mismos, respecto de los MN sin encapsular.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ahmed, A., Randhawa, M. y Wasim, M. (2014). Cap 6. Bioavailability of Calcium, Iron, and Zinc in Whole Wheat Flour. In: Wheat and Rice in Disease Prevention and Health. EE.UU. 67 – 80.
2. Ahmed, J., Ptaszek, P. y Basu, S. (2017). Food Rheology: Scientific Development and Importance to Food Industry. En: Advances in Food Rheology and Its Applications. Woodhead Publishing. 1-4.
3. Álvarez, J., Cuenllas, A., Gómez, F., López, M., Ruiz, D., y Sánchez, B. (2012). Alimentación y Nutrición Saludable en los Mayores. Editorial IMC. España.
4. Anandharamkrishnan, C., Rielly, C. y Stapley, A. (2007). Effects of process variables on the denaturation of whey proteins during spray drying. *Drying Technology*, 25(1): 799 – 807.
5. Andrade, R., Torres, R., Montes, E., Pérez, O., Bustamante, C., Mora, B. (2010). Effect of temperature on the rheological behavior of zapote pulp (*Calocarpum sapota Merr*). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia*, 33 (2): 138-144.
6. Andrade, K. (2018). Preparación y caracterización de micropartículas cargadas de sulfato ferroso heptahidratado mediante el método combinado de emulsificación/ gelificación iónica externa. Tesis (Químico de alimentos). Quito, Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas.
7. Aro, J. y Calsin, M. (2019). Elaboración de una mezcla alimenticia a base de quinua, cañihua, cebada, maíz, haba y soya por proceso de cocción extrusión. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(4): 293 – 303.
8. Arteaga, A. y Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in poder of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, 7 (3): 191 – 200.
9. Augustin, M. y Hemar, Y. (2009). Nano and micro structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(1): 902 - 912.
10. Benavides, S.; Cortés, P.; Parada, J. y Franco, W. (2016). Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food chemistry*, 204: 77 – 83.

11. Bringas, M., Expoósito, I., Reineccius, G., López, O. y Pino, J. (2011). Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Drying Technology*, 29(1): 520 – 526.
12. Brodkorb et al. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion, *Nature Protocols*, 14: 991–1014.
13. Buniowska, M., Carbonell, J., Frigola A., Esteve M. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of a mixture of exotic fruit juice sweetened with *Stevia rebaudiana* *Food Chemistry*, 221: 1834 – 1842.
14. Cardoso, C., Afonso, C., Lourenço, H., Costa, S. y Nunes, M. (2015). Metodologías de evaluación de bioaccesibilidad y sus consecuencias para la evaluación riesgo-beneficio de los alimentos. *Tendencias en la ciencia y la tecnología de los alimentos*, 41 (1): 5 – 23.
15. Cardoso, B. (2016). Microencapsulación de vitamina D<sub>3</sub> en una matriz de proteína aislada de suero de leche. Tesis (Magíster en ciencia de los alimentos). Florianópolis, Brasil. Centro de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencia y Tecnología de alimentos, Universidad Federal de Santa Catarina.
16. Cano-Chauca, M., Stringheta, P., Ramos, A. y Cal-Vida, L. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 420 – 428.
17. Casanova, F., Estevinho, B. y Santos, L. (2016). Preliminary studies of rosmarinic acid microencapsulation with chitosan and modified chitosan for topical delivery. *Powder Technology*, 297: 44–49.
18. Coronel, A. (2015). Efecto de las condiciones de secado por aspersión en la obtención de un colorante natural a partir de extractos líquidos de cúrcuma (*Curcuma longa* L). Tesis (Magíster en ciencia y tecnología de alimentos). Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias.
19. Corte, J. y Bohn, T. (2018). Interaction of divalent minerals with liposoluble nutrients and phytochemicals during digestion and influences on their bioavailability – a review. *Food Chemistry*, 252: 285 – 293.
20. Chang, Y. y McClements, D. (2016). Influence of emulsifier type on the in vitro digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin, or Tween 80. *Food Hydrocolloids*, 61: 92-101.

21. Churio, O. y Valenzuela, C. (2018). Development and characterization of maltodextrin microparticles to encapsulate heme and non-heme iron. *LWT - Food Science and Technology*, 96: 568–575.
22. De Barros, R., Vilela, S. y Alvarenga, D. (2013). Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33: 171 – 178.
23. Desai, K., Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7): 1361 – 1394.
24. Doley, J. (2017). Cap 14. Vitamins and Minerals in Older Adults: Causes, Diagnosis, and Treatment of Deficiency. En su: Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging. USA.125 – 137.
25. Dueñas, S. y García, P. (2016). Técnicas diagnósticas en malabsorción y maldigestión de macronutrientes. *Rev. Nutrición clínica en medicina*, X (1): 40 – 53.
26. Durán, E., Villalobos, C., Churio, O., Pizarro, F. y Valenzuela, C. (2017). Iron encapsulation: Another strategy for the prevention or treatment of iron deficiency anemia. *Revista Chilena de Nutrición*, 44 (3): 234 – 243.
27. Durán, S., Ulloa, A. y Reyes, S. (2014). Comparación del consumo de vitaminas y minerales en adultos mayores chilenos según estado nutricional. *Revista Médica Chile*, 142:1594 – 1602.
28. Durán, S. y Vásquez, A. (2015). Anthropometric characterization, quality and lifestyles of the Chilean higher octogenarian old. *Revista Nutrición Hospitalaria*, 31(6): 2554 – 2560.
29. Durán, E., Villalobos, C., Churio, O., Pizarro, F. y Valenzuela, C. (2017). Encapsulación de hierro: Otra estrategia para la prevención o tratamiento de la anemia por deficiencia de hierro. *Revista Chilena de Nutrición*, 44(3): 234-243.
30. Drago, S. y Valencia, M. (2008). Biodisponibilidad y métodos de determinación. En su: "Minerales en Alimentos y Dietas Iberoamericanas". Brasil. Editorial SBAN. 11 – 42.
31. Drusch, S. (2006). Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids*, 21(7): 1223 – 1228.



32. Estevinho, B., Rocha, F., Santos, L. y Alves, A. (2013). Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications: a review. *Trends Food Science and Technology*, 31(2): 138–155.
33. Estevinho, B., et al. (2014). The influence of microencapsulation with a modified chitosan (water soluble) on  $\beta$ -galactosidase activity. *Drying Technology.*, 32: 1575–1586.
34. Estevinho, B., Ramos, I. y Rocha, F. (2015). Effect of the pH in the formation of  $\beta$ -galactosidase microparticles produced by a spray-drying process. *International Journal of Biological Macromolecules*, 78: 238–242.
35. Fang, Z. y Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols: a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 21(10): 510 – 523.
36. Ferrandini, E., Castillo, M., López, M., Laencina, J. (2006). Modelos estructurales de las micelas. *Anales de veterinaria de Murcia*, 22: 5 – 18.
37. Fernandes, R., et al. (2013). Microencapsulation of rosemary essential oil: characterization of particles. *Drying Technology*, 31(11): 1245–1254.
38. Fernandes, R., Borges, S., Botrel, D, et al. (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(6): 1522–1529.
39. Fernández, L., Turatti, I., López, N., Ferreira, J., Candido, R. y Oliveira, W. (2008). Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. *Drying Technology*, 26: 1534 – 1542.
40. Fredes, C., Osorio, M, Parada, J., Robert, P. (2018). Estabilidad y bioaccesibilidad de antocianinas de micropartículas de jugo de maqui (*Aristotelia chilensis*). *LWT Food Science Technology*, 91: 549 – 556.
41. Galán, C. (2018). Diseño de prototipo de viscosímetro y validación de uso en fluidos de alta, media y baja viscosidad. Tesis (Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos). Quito, Ecuador. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, Universidad de Las Américas.
42. Gawlik-Dziki, U (2012). Changes in the antioxidant activities of vegetable as a result of the interactions between the active compounds. *Journal of Functional Food*, 4 (4): 872 – 882.
43. Gharibzahedi, S. y Jafari, S. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, 62: 19-132.

44. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. y Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9): 1107 – 1121.
45. Gibson, G., Probert, H., Loo, J., Rastall, R. y Roberfroid, B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17: 259–275.
46. Gil, P., Ramos, P., Cuesca, F., Mañas, C., Cuenllas, A. y Álvarez, I. (2013). Nutrición en el anciano: Guía de buena práctica clínica en geriatría. España.
47. Gironés-Vilaplana, A., Villaño, D., Marhuenda, J., Moreno, D. y García-Viguera, C. (2017). Vitamins. En: Galanakis, C. *Nutraceutical and Functional Food Components*. Grecia. Academic Press. 159 – 201.
48. Gonçalves, A., Estevinho, B. y Rocha, F. (2017). Design and characterization of controlled release vitamin A microparticles prepared by a spray drying process. *Powder technology*, 305: 411 – 417.
49. González, V., Rodeiro, C., Sanmartín, C. y Vila, S. (2014). Introducción al análisis sensorial: estudio hedónico del pan en el IES Mugardos. IV Concurso Incubador de Encuestas y Experimentos. Sociedad gallega para la promoción de estadísticas e investigación de operaciones.
50. Hanson, B., O'Leary, M. y Smith, C. (2012). The Effect of Saliva on the Viscosity of Thickened Drinks. *Dysphagia*, 27: 10–19.
51. Haro, J. (2006). Biodisponibilidad de diferentes compuestos de hierro añadidos a un néctar de frutas funcional. Interacción con las vitaminas y fructo-oligosacáridos. Tesis doctoral. Murcia, España. Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Murcia.
52. Hemalatha, S., Platel, K. y Srinivasan, K. (2007). Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India. *Food Chemistry*, 102: 1328–1336.
53. Hernández, V. (2015). Encapsulación de hierro hemínico en Cápsulas de alginato de sodio como un suplemento oral Para cerdos neonatos: estudios *in vitro*. Tesis (Médico veterinario). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias.
54. Hurrell, R. (2004). Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 74: 445–452.

55. Jafari, S., Assadpoor, E., He, Y. y Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26: 816 – 835.
56. Jannasari, N., Fathi, M., Moshtaghian, S., Abbaspourrad, A. (2019). Vitamin D microencapsulation using watercress gelatin and mucilage: production, characterization and in vivo study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129: 972 – 979.
57. Jakobsen, J. y Knuthsen, P. (2014). Stability of vitamin D in foodstuffs during cooking. *Food Chemistry*, 148: 170- 175.
58. Jittanit, W., Chantara, T. y Deying, W. (2011). Ratanavong, Production of tamarind powder by drum dryer using maltodextrin and Arabic gum as adjuncts. *Journal Science. Technology*, 33 (1): 33 – 41.
59. Khan, W., Butt, M., Pasha, I. y Jamil, A. (2020). Microencapsulation of vitamin D in protein matrices: in vitro release and storage stability. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14: 1172–1182.
60. Lazarte, C., Carlsson, N., Almgren, A., Sandberg, A. y Granfeldt, Y. (2015). Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39: 111–119.
61. Liu, K., Kong, X., Li, Q., Zhang, H., Zha, X., y Luo, J. (2020). Stability and bioavailability of vitamin D<sub>3</sub> encapsulated in composite gels of whey protein isolate and lotus root amylopectin. *Carbohydrate polymers*, 227 (115337).
62. Lopez, B., Carbajal, L., Millan, L. (2009). Establecimiento de condiciones de la mezcla de pulpa de banano (*Musa paradisiaca*) para someter a secado por aspersión. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 16(3): 287-296.
63. Loveday, S., Rao, M., Creamer, L. y Singh. H. (2010). Rheological behavior of high-concentration sodium caseinate dispersions. *Journal of Food Science*, 75 (2).
64. Lyon, R. (2000). Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos. Edición 2da. Editorial Acribia. España.
65. Mahan, L, Escott-Stump, S. y Raymond, J. (2012). Krause's Food and the Nutrition Care Process, 13th ed. Saunders, St. Louis, Missouri.
66. Mahdavi, S., Jafari, S., Assadpoora, E. y Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85: 379-385.

67. Malgorzata, A., Tomás, L., Gallego, E., Villalba, M., Rivera, D., Laure, D. Gianottic, A. (2019). In vitro bioaccessibility and bioavailability of iron from breads fortified with microencapsulated iron. *LWT*, 99: 431 – 437.
68. Manual de programas alimentarios. (2011). Ministerio de salud, Subsecretaria de salud pública, División de políticas públicas, saludables y promoción, Departamento de alimentos y nutrición.
69. Masi, C. y Atalah. E. (2008). Análisis de la aceptabilidad, consumo y aporte nutricional del programa alimentario del adulto mayor. *Revista Médica Chile*, 136: 415 – 422.
70. Maurya, V., Bashir, K. y Aggarwal, M. (2020). Microencapsulación y fortificación de vitamina D: tendencias y tecnologías. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 196 (105489).
71. McClements, D. (2010). Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1: 241 – 269.
72. Meilgaard, M., Civille, G. y Carr, B. (2015). Cap. 13. Affective Tests: Consumer Tests and In – House Panel Acceptance Tests. En: *Sensory Evaluation Techniques*. Fifth edition. USA. 307 – 359.
73. Méndez, A., Pérez, L. y Paniagua, A. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin - American Journal of Physics Education*, 4 (1): 237 – 245.
74. Montero, N. y Ribera, J. (2002). Envejecimiento: cambios fisiológicos y funcionales relacionados con la nutrición. En: Rubio, M. *Manual de alimentación y nutrición en el anciano*. España. Scientific Communication Management ediciones. 15 – 22.
75. Montes, E., De Paula, C. y Ortega, F. (2007). Determinación de las condiciones óptimas de encapsulamiento por co-cristalización de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*). *Revista Temas Agrarios*, 12: 5 – 12.
76. Moreno, V. (2012). Elaboración de vino de Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Tesis (Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Saltillo, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
77. Moslemi, M., Hosseini, H., Erfan, M., Mortazavian, A., Fard, R., Neyestani, T. y Komeyli, R. (2014). Characterisation of spray-dried microparticles containing iron coated by

- pectin/resistant starch. *International journal of food science and technology*, 49(7): 1736-1742.
78. Mueller, C. (2012). *The ASPEN Adult Nutrition Support Core Curriculum*, 2nd edn. Silver Spring, Maryland.
79. Muñoz, A., Restrepo, D. y Sepúlveda, J. (2012). Inulina in meat foods: a review. *Facultad Nacional de Agronomía*, 65(2): 6789-6798.
80. Murúa, B., Beristain, C. y Martínez, F. (2009). Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 91(3): 380 – 386.
81. Nakagawa, K., Surassmo, S., Min, S. y Choi, M. (2011). Dispersibility of freeze-dried poly (epsilon-caprolactone) nanocapsules stabilized by gelatin and the effect of freezing. *Journal of Food Engineering*, 102(2):177 – 188.
82. Organización Mundial de la Salud. Organismos internacionales y envejecimiento 2009 [http://trabajo.xunta.es/export/sites/default/Biblioteca/Documentos/Publicacions/congreso\\_envejecimiento/congreso\\_envejecimiento\\_activo.pdf](http://trabajo.xunta.es/export/sites/default/Biblioteca/Documentos/Publicacions/congreso_envejecimiento/congreso_envejecimiento_activo.pdf) [Consulta: 10/10/2018].
83. Ozturk, B., Arginc, A., Ozilgenc, M. y McClement, D. (2015). Nanoemulsion delivery systems for oil-soluble vitamins: Influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D<sub>3</sub> bioaccessibility. *Food chemistry*, 187: 499 – 506.
84. Páez, M. (2012). Los micronutrientes. Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud. *Revista Salus*, 16(2): 5 – 6. Bárbula, Venezuela.
85. Paiva, A., et al. (2015). Development and validation of UV spectrophotometric method for determining the herbicide molinate with and without alginate microparticles. *Environmental Engineering and Management Journal*, 14(2): 303–309.
86. Parada, J. y Aguilera, J.M. (2007). Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Journal Food Science*, 72: 21 – 34.
87. Paramita, V., Furuta, T. y Yoshii, H. (2012). High-oil-load encapsulation of medium-chain triglycerides and dlimonene mixture in modified starch by spray drying. *Journal of Food Science*, 77(2): 38–44.
88. Porras, J., Palacios, E., Lartundo, L., Garibay, V., Yáñez, J. y et. al (2015). Propiedades microestructurales y distribución de componentes en micropartículas obtenidas por secado por pulverización. *Journal of Food Engineering*, 152: 105 – 112.

89. Porter, C., Trevaskis, N. y Charman, W. (2007). Lipids and lipid-based formulations: Optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(3): 231–248.
90. Proyecto FONDEF ID17AM0018 (2018). Desarrollo de alimentos saludables con buenos atributos sensoriales para mejorar el estado nutricional del adulto mayor. Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico, Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica.
91. Qiu, C., Qin, Y., Jiang, S., Liu, C., Xiong, L y Sun., Q. (2017). Preparation of active polysaccharide-loaded maltodextrin nanoparticles and their stability as a function of ionic strength and pH. *LWT-Food Science and Technology*, 76 (A): 164 –171.
92. Rastall, R. y Gibson, G. (2015). Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. *Current Opinion in Biotechnology*, 32: 42-46.
93. Ramírez, J. (2006). Fundamentos de la reología de alimentos. *Revista Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos*, 6: 1- 46.
94. Reglamento Sanitario de los Alimentos, DTO. N° 977/96 (20018). Ministerio de Salud. División Jurídica.
95. Reboul, E., Goncalves, A., Comera, C., Bott, R., Nowicki, M., Landrier, J. F., et al. (2011). Vitamin D intestinal absorption is not a simple passive diffusion: Evidences for involvement of cholesterol transporters. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(5): 691–702.
96. Ricca, E. y Calabrò, V. (2007). The state of the art in fructose production from enzymatic hydrolysis of inulin. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27: 129 – 145.
97. Rosa, S. (2017). Minerals. En: Galanakis, C. Nutraceutical and Functional Food Components. Grecia. Academic Press. 129 – 157.
98. Saffari, M., et al. (2013). Applying Iranian gum tragacanth to improve textural properties of maltodextrin microcapsules. *Journal of Texture Studies*, 44(1): 12–20.
99. Saini, R., Nile, S., y Keum, Y. (2016). Food science and techonology for management of iron deficiency in humans: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 53: 13-22.
100. Sánchez, H., Albala, C., Lera1, L., Dangour, A. y Ricardo, U. (2013). Effectiveness of the National Program of Complementary Feeding for older adults in Chile on vitamin B<sub>12</sub> status

- in older adults; secondary outcome analysis from the CENEX Study (ISRCTN48153354). *Nutrition Journal*, 12: 124.
101. Sánchez, H. (2013). Chile y sus mayores. En: Encuesta nacional de calidad de vida en la vejez.
102. Sancho, R., Souza, J., De Lima, F. y Pastore, G. (2017). Evaluation of oligosaccharide profiles in selected cooked tubers and roots subjected to in vitro digestión. *LWT- Food Science and Technology*, 76: 270 – 277.
103. Sarao, L. y Arora, M. (2017). Probióticos, prebióticos y microencapsulación: una revisión. *Food Science and Nutrition*, 57: 344 – 371.
104. Sarkar, S., et al. (2012). Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum arabic for microencapsulation of mint oil. *Carbohydrate Polymers*, 90(4): 1685–1694.
105. Schrezenmeir, J. y Scholz, K. (2007). Inulin and Oligofructose and mineral metabolism: evidence from animal tests. *The Journal of Nutrition*, 137 (11): 2513S - 2523S.
106. Schweitzer, D., Amenábar, P., Botello, D., López, M., Saavedra, Y. y Klaber, I. (2016). Prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D en adultos mayores con fractura de cadera en Chile. *Revista Médica Chile*, 144 (1): 175 -180.
107. Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M, Rakha, A., Raza, H., Sharif, H, et al. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147: 444-454.
108. Silva J., y Moya J. (2008). Preferencias de consumos de los alimentos en dos CESFAM de la región metropolitana. En: XXVII Jornadas chilenas de salud pública. Universidad de Chile.
109. Servicio Nacional del Adulto Mayor (SENAMA) (2017). “Quinta encuesta nacional de inclusión y exclusión social de las personas mayores en Chile: Opiniones de la población chilena respecto al envejecimiento poblacional”. Ministerio del desarrollo, Gobierno de Chile.
110. Singh, M., Hemant, K., Ram, M. y Shivakumar, H. (2010). Microencapsulation: promising techniques for the controlled supply of drugs. *Research in Pharmaceutical Science*, 2: 65 – 77.
111. Soottitantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., Poutanen, K. y Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and

- oxidative stability of d-limonene encapsulated by spray drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1269 – 1276.
- 112.Sosa, N., Schebor, C. y Perez, O. (2014). Encapsulation of citral in formulations containing sucrose or trehalose: emulsions properties and stability. *Food and Bioproducts Processing*, 92: 266 – 274.
- 113.Sotelo, M., González, R. y Bello, L. (2018). Propiedades emulsionantes de una maltodextrina modificada con anhídrido octenil succínico (OSA). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3: 461-466.
- 114.Stahl, W., van den Berg, H., Arthur, J., et al. (2002). Bioavailability and Metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 23: 39-100.
- 115.Steffe, J. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, 2nd Ed. Freeman Press, East Lansing. Michigan State, USA.
- 116.Tahereh, S. y Rehmann, L. (2014). Optimization of inulin enzymatic hydrolysis of Jerusalem artichoke tubers for fermentative butanol production, *Biomass and Bioenergy*, 69: 175 – 182.
- 117.Tan, Y., Liu, J., Zhou, H., Muriel, J. y McClements, D. (2019). Impact of an indigestible oil phase (mineral oil) on the bioaccessibility of vitamin D<sub>3</sub> encapsulated in whey protein-stabilized nanoemulsions. *Food Research International*, 120: 264 – 274.
- 118.Taylor, P., et al. (2012). Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil influence of spraydryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Drying Technology*, 29: 520–526.
- 119.Tonon, R., Brabet, C. y Hubinger, M. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88: 411 – 418.
- 120.Tsiaras, W.G., Weinstock, M.A., 2011. Factors influencing vitamin D status. *Acta Derm. Venereol*, 91, 115–124.
- 121.Turchiuli, C., Jiménez, M., Hernández, M., Cortes, H. y Dumoulin, E. (2014). Use of different supports for oil encapsulation in powder by spray drying. *Powder Technology*, 255: 103 – 108.
- 122.Umeta, M., West, C. y Fufa, H. (2005). Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 252: 285 – 293.



123. Valencia, A., Ferrer, L. y Portela, O. (2013). Review: Biodisponibilidad de nutrientes minerales. *Revista Farmacéutica*. 18 – 35.
124. Vasanthan, T., Yeung, J. y Hoover, R. (2001). Dextrinization of Starch in Barley Flours with Thermostable alpha-Amylase by Extrusion Cooking. *Starch - Stärke*, 53(12): 616-622.
125. Wua, G., Ashtonb, J., Simicc, A., Fangd, Z. y Johnson, S. (2018). Mineral availability is modified by tannin and phytate content in sorghum flaked breakfast cereals, *Food Research International*, 103: 509–514.
126. Yáñez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Márquez, M. y Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva*, 21: 313 – 319.
127. Zuidam, N. y Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulate for use in food products or processes and methods to make them. En: N. J. Zuidam y E. Shimoni. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Nueva York, E.U. 74 – 101.
128. Zuleta, A. (2013). Fibra dietética: nuevas perspectivas nutricionales y tecnológicas en el área de cereales, granos y salud. *En: Alimentación saludable en la Argentina. Logros y desafíos*. Buenos Aires. Orientación gráfica editora.

## IX. ANEXOS

### ANEXO 1. PRUEBA DE DIFERENCIAS CONTRA CONTROL

#### PRUEBA DE DIFERENCIAS CONTRA CONTROL – CREMA DE LENTEJAS

Nombre: .....

Fecha: .....

#### Instrucciones:

- Evalúe el control primero y luego la muestra.
- Para la muestra, califique GRADO Y DIRECCIÓN de diferencia con el control en cada atributo.

Primero mire la muestra, compárela con el control y evalúe lo siguiente:

#### 1.- INTENSIDAD DE COLOR DE LA CREMA (agite con la cuchara antes de evaluar):

-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho más claro			Algo más claro		<b>Igual al control</b>		Algo más oscuro			Mucho más oscuro

#### 2.- CONSISTENCIA CON CUCHARA: agite la muestra con la cuchara

-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos consistente			Algo menos consistente		<b>Igual al control</b>		Algo más consistente			Mucho más consistente

Ahora por favor huela primero el control y luego la muestra:

#### 3.- INTENSIDAD DE OLOR CARACTERÍSTICO A LENTEJA:

-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos intenso			Algo menos intenso		<b>Igual al control</b>		Algo más intenso			Mucho más intenso

**Ahora por favor pruebe primero el control y luego la muestra:**

**4.- CANTIDAD DE GRUMOS:**

-5	-4	-3	-2	-1	<b>0</b>	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos			Algo menos		<b>Igual al control</b>		Algo más			Mucho más

**5.- CONSISTENCIA EN LA BOCA:**

-5	-4	-3	-2	-1	<b>0</b>	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos consistente			Algo menos consistente		<b>Igual al control</b>		Algo más consistente			Mucho más consistente

**6.- INTENSIDAD DE SABOR GENERAL:**

-5	-4	-3	-2	-1	<b>0</b>	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos intenso			Algo menos intenso		<b>Igual al control</b>		Algo más intenso			Mucho más intenso

**7.- INTENSIDAD DE SABOR CARACTERÍSTICO A LENTEJA:**

-5	-4	-3	-2	-1	<b>0</b>	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos intenso			Algo menos intenso		<b>Igual al control</b>		Algo más intenso			Mucho más intenso

**8.- FACILIDAD PARA TRAGAR:**

-5	-4	-3	-2	-1	<b>0</b>	+1	+2	+3	+4	+5
Mucho menos fácil			Algo menos fácil		<b>Igual al control</b>		Algo más fácil			Mucho más fácil

**9A.- Ahora por favor evalúe LA MUESTRA respecto a la presencia de sabor extraño (amargo, a crudo, a cocido, metálico, añejo, rancio, quemado), calificando con nota de 0, en donde es ausente y 5 donde es muy intenso. Escriba sobre la línea la calificación que estime correcta.**

Calificación de la muestra (entre 0 y 5): \_\_\_\_\_

Si encontró sabor extraño (puntaje distinto a 0), por favor marque el / los sabores percibidos:

- \_\_\_\_\_ Amargo
- \_\_\_\_\_ A crudo
- \_\_\_\_\_ A cocido
- \_\_\_\_\_ Metálico
- \_\_\_\_\_ Añejo
- \_\_\_\_\_ Rancio
- \_\_\_\_\_ Quemado
- \_\_\_\_\_ Otro. Indicar cuál: \_\_\_\_\_

**9B.- Ahora por favor evalúe EL CONTROL respecto a la presencia de sabor extraño (amargo, a crudo, a cocido, metálico, añejo, rancio, quemado), calificando con nota de 0, en donde es ausente y 5 donde es muy intenso. Escriba sobre la línea la calificación que estime correcta.**

Calificación de la muestra (entre 0 y 5): \_\_\_\_\_

Si encontró sabor extraño (puntaje distinto a 0), por favor marque el / los sabores percibidos:

- \_\_\_\_\_ Amargo
- \_\_\_\_\_ A crudo
- \_\_\_\_\_ A cocido
- \_\_\_\_\_ Metálico
- \_\_\_\_\_ Añejo
- \_\_\_\_\_ Rancio
- \_\_\_\_\_ Quemado
- \_\_\_\_\_ Otro. Indicar cuál: \_\_\_\_\_

*¡Muchas Gracias!*

## ANEXO 2. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA LSD DE LAS MP

### Vitamina D<sub>3</sub>

**Tabla A1. ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	98,2627	3	32,7542	2,83	0,1062
Intra grupos	92,4901	8	11,5613		
Total (Corr.)	190,753	11			

**Tabla A2. ANOVA para R (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	359,257	3	119,752	18,43	0,0006
Intra grupos	51,9695	8	6,49618		
Total (Corr.)	411,226	11			

**Tabla A3. Prueba LSD para R (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:I (3:1)	3	86,92	A
M:I (1:1)	3	87,34	A
M:C (1:1)	3	97,22	B
M:C (3:1)	3	98,80	B

**Tabla A4. ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	207,766	3	69,2552	10,33	0,0040
Intra grupos	53,6439	8	6,70549		
Total (Corr.)	261,409	11			

**Tabla A5. Pruebas LSD para ER (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:I (1:1)	3	61,00	A
M:I (3:1)	3	68,01	B
M:C (3:1)	3	70,62	B
M:C (1:1)	3	71,67	B

**Tabla A6. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2448,81	2	1224,4	182,79	0,0000
Intra grupos	40,1899	6	6,6983		
Total (Corr.)	2489,00	8			

**Tabla A7. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Sin microencapsular	3	31,10	A
MD:CA (3:1)	3	47,74	B
MD:CA (1:1)	3	71,31	C

**Calcio****Tabla A8. ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	355,387	3	118,462	10,40	0,0039
Intra grupos	91,0968	8	11,3871		
Total (Corr.)	446,484	11			

**Tabla A9. Prueba LSD para IS (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:I (1:1)	3	73,80	A
M:C (3:1)	3	76,38	A
M:I (3:1)	3	84,54	B
M:C (1:1)	3	86,85	B

**Tabla A10. ANOVA para R (%) por relación encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	173,864	3	57,9546	5,72	0,0217
Intra grupos	81,0914	8	10,1364		
Total (Corr.)	254,955	11			

**Tabla A11. Prueba LSD para R (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:I (3:1)	3	82,65	A
M:C (1:1)	3	82,99	A
M:I (1:1)	3	87,19	AB
M:C (3:1)	3	92,04	B

**Tabla A12. ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	484,61	3	161,537	46,31	0,0000
Intra grupos	27,9031	8	3,48788		
Total (Corr.)	512,513	11			

**Tabla A13. Prueba LSD para ER (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:C (1:1)	3	84,21	A
M:I (3:1)	3	98,84	B
M:I (1:1)	3	98,86	B
M:C (3:1)	3	98,96	B

**Tabla A 14. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3633,13	2	1816,56	511,90	0,0000
Intra grupos	21,2920	6	3,54867		
Total (Corr.)	3654,42	8			

**Tabla A 15. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Sin microencapsular	3	10,50	A
MD:CA (3:1)	3	51,93	B
MD:CA (1:1)	3	54,22	B

**Hierro****Tabla A16. ANOVA para IS (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,12415	1	2,1242	0,33	0,5968
Intra grupos	25,8056	4	6,4514		
Total (Corr.)	27,9298	5			

**Tabla A17. ANOVA para R (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	58,1571	1	58,1571	5,73	0,0749
Intra grupos	40,6253	4	10,1563		
Total (Corr.)	98,7823	5			

**Tabla A18. ANOVA para ER (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	47,9968	1	47,9968	18,59	0,0125
Intra grupos	10,3253	4	2,58132		
Total (Corr.)	58,3221	5			

**Tabla A19. Prueba LSD para ER (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
M:C (1:1)	3	32,14	A
M:C (3:1)	3	37,80	B

**Tabla A 20. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2375,66	1	2375,66	1092,75	0,0000
Intra grupos	8,69607	4	2,17402		
Total (Corr.)	2384,36	5			

**Tabla A 21. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) por relación de encapsulantes**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Sin microencapsular	3	1,20	A
MD:IN (3:1)	3	41,0	B

**ANEXO 3. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA LSD PARA LOS ALIMENTOS****Tabla A22. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de vitamina D<sub>3</sub> por alimento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2007,88	1	2007,88	520,70	0,0000
Intra grupos	15,4243	4	3,85608		
Total (Corr.)	2023,30	5			

**Tabla A23. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de vitamina D<sub>3</sub> por alimento**

Alimento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Producto PACAM	3	19,42	A
Crema de lentejas	3	56,00	B



**Tabla A24. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de calcio por alimento**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	1267,89	1	1267,89	304,96	0,0001
Intra grupos	16,6301	4	4,15753		
Total (Corr.)	1284,52	5			

**Tabla A25. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de calcio por alimento**

<b>Alimento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Producto PACAM	3	10,00	A
Crema de lentejas	3	39,08	B

**Tabla A26. ANOVA para la bioaccesibilidad (%) de hierro por alimento**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	594,015	1	594,015	216,43	0,0001
Intra grupos	10,9786	4	2,74465		
Total (Corr.)	604,994	5			

**Tabla A27. Prueba LSD para la bioaccesibilidad (%) de hierro por alimento**

<b>Alimento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Producto PACAM	3	2,10	A
Crema de lentejas	3	22,0	B

## ANEXO 4. TABLAS DE RESULTADOS

**Tabla A28. Resultados de la caracterización fisicoquímica de las MP**

Factores de estudio		Variable respuesta		
Micronutriente	Relación entre encapsulantes	IS (%) X ± DE	R (%) X ± DE	ER (%) X ± DE
Vitamina D <sub>3</sub>	MD:IN (1:1)	79,0 ± 3,7	87,3 ± 2,4	61,0 ± 2,1
	MD:IN (3:1)	86,4 ± 4,0	86,9 ± 3,1	68,0 ± 3,0
	MD:CA (1:1)	80,6 ± 2,1	97,2 ± 2,8	71,7 ± 3,1
	MD:CA (3:1)	86,7 ± 4,2	99,0 ± 2,1	70,6 ± 2,0
Calcio	MD:IN (1:1)	73,8 ± 3,4	87,2 ± 3,6	100 ± 3,4
	MD:IN (3:1)	84,5 ± 3,3	82,7 ± 2,3	100 ± 3,2
	MD:CA (1:1)	86,9 ± 4,2	83,0 ± 3,4	84,2 ± 2,5
	MD:CA (3:1)	76,4 ± 2,3	92,0 ± 3,3	100 ± 2,7
Hierro	MD:IN (1:1)	71,6 ± 2,7	71,5 ± 3,1	32,1 ± 1,5
	MD:IN (3:1)	72,8 ± 2,4	77,7 ± 3,2	37,8 ± 1,8

**Tabla A29. Resultados de la bioaccesibilidad (%) de las MP**

Factores de estudio		Variable respuesta
Micronutriente	Relación entre encapsulantes	Bioaccesibilidad (%) X ± DE
Vitamina D <sub>3</sub>	MD:CA (1:1)	71,3 ± 2,6
	MD:CA (3:1)	47,7 ± 2,7
Calcio	MD:IN (1:1)	51,9 ± 2,0
	MD:CA (3:1)	54,2 ± 1,1
Hierro	MD:IN (1:1)	30,3 ± 1,6
	MD:IN (3:1)	41,0 ± 2,0

**Tabla A30. Resultados de la bioaccesibilidad (%) de las cremas instantánea de lentejas**

<b>Micronutriente</b>	<b>Bioaccesibilidad (%)</b>	
	<b>Crema de lentejas desarrollada X ± DE</b>	<b>Crema de lentejas PACAM X ± DE</b>
Vitamina D <sub>3</sub>	56,0 ± 1,9	19,4 ± 2,0
Calcio	39,1 ± 2,5	10,0 ± 1,5
Hierro	22,0 ± 2,2	2,1 ± 0,9