

00582



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIOS DE DIFUSION DE NUTRIMENTOS EN
ALIMENTOS MICROENCAPSULADOS PARA
LARVAS DE CRUSTACEOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS
(INGENIERIA QUIMICA)**

PRESENTA:

RUTH PEDROZA ISLAS



MEXICO, D.F.

2000

281529



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

NUTRIENTS DIFFUSION STUDIES IN MICROENCAPSULATED FEEDSTUFFS FOR CRUSTACEAN LARVAE

Ruth Pedroza Islas

ABSTRACT

A shrimp feedstuff was microencapsulated through spray drying using biopolymer treatments as wall materials after a three component Simplex Centroid experimental design. Encapsulating agents were arabic gum, mesquite gum, and maltodextrin, alone and in mixtures. Wall material to feedstuff ratios studied were 2:1 and 3:1, and pH values of 4 and 8. Morphology and microstructure of the microcapsules were evaluated. Synthetic sea water was used to evaluate the microcapsules dissolution and floatability rates. An empirical equation was obtained to represent the dissolution phenomena. Encapsulating ability of each polymer was determined by the encapsulation of cod liver oil. The evaluation considered the amount of oil present in the outer surface of the microcapsules. Oil oxidation kinetics was also measured using differential scanning calorimetry, DSC, at dynamic conditions. Arrhenius parameters, Z, Ea, and k, were obtained from these data. Water absorption was also evaluated keeping the microcapsules in a controlled humidity and temperature atmosphere (74%, 29°C). Bioassay were carried out with *L. vannamei* using the best encapsulated diets. The response surface methodology indicated that the three above mentioned variables affected the microcapsule particle size and microstructure, as evidenced by scanning electronic microscopy. Predictive equations show that the factor that affected significantly the microcapsule particle size was the binary interactions among the biopolymers. The higher the wall material-feedstuff ratio the larger the microcapsule particle size. As pH varied from 4 to 8, the biopolymer adsorbed layers around the core material were more extended. All the resulting microcapsules were of the matrix type in which the feedstuff microparticles were distributed within the solid wall material matrix. The experimental dissolution data followed a first-order kinetics model, whilst the experimental floatability data followed a first-order decay model. Oil encapsulation efficiency was better at pH values of 4 more than at 8. There is a significant interaction between pH values and wall biomaterials. The best conditions found to avoid oxidation were the ones given by mesquite gum, followed by maltodextrin at pH equal to 8 with an activation energy of 296 and 229 kJ/mol, respectively. Concerning water absorption the best treatments were those selected by their characteristic times of dissolution and floatability. As a result, it was determined that the best microcapsules could be selected by using the characteristic dissolution and floatability parameters as screening criteria, without having to carry out cumbersome bioassays with all the experimental diets.



ESTUDIOS DE DIFUSIÓN DE NUTRIMENTOS A PARTIR DE ALIMENTOS MICROENCAPSULADOS PARA LARVAS DE CRUSTÁCEOS

Ruth Pedroza Islas

RESUMEN

En este estudio se encapsuló por secado por aspersión, una dieta para larvas de camarón, utilizando como agentes encapsulantes a la goma arábiga, la goma de mezquite y la maltodextrina, solos y mezclados de acuerdo a un diseño experimental de tres componentes Simplex Centroid. Se realizaron cuatro experimentos con dos valores de pH, 4 y 8 y dos relaciones de material encapsulante:dieta, 2:1 y 3:1. Se determinó la morfología y la microestructura interna de las microcápsulas. Muestras de los diferentes tratamientos fueron colocadas en agua de mar sintética para determinar sus tasas de disolución y flotabilidad. Se evaluó la disolución de las microcápsulas a partir de la ecuación de difusión. Para evaluar la capacidad encapsulante de la fracción lipídica de la dieta y las propiedades de barrera a la oxidación, se microencapsuló aceite de hígado de bacalao con las condiciones descritas antes. Todas las microcápsulas fueron evaluadas en cuanto a aceite superficial. También se determinó la cinética de oxidación del aceite por medio de calorimetría diferencial de barrido, en régimen dinámico. Se calcularon los parámetros de Arrhenius, Z, Ea y k. También se determinó la capacidad de adsorción de agua manteniendo las microcápsulas en una atmósfera de humedad relativa de 74% y 29°C. Se realizó un bioensayo con larvas de *L.vannamei*, empleando las dietas microencapsuladas que presentaron las mejores características. La metodología de superficie de respuesta indicó que las tres variables utilizadas, tipo de polímero, pH y concentración, tuvieron efecto sobre el tamaño de partícula, la morfología y la microestructura interna, como fue puesto en evidencia por los estudios de microscopía electrónica de barrido. Las ecuaciones predictivas indicaron que las interacciones binarias entre los polímeros fueron las que afectaron significativamente el tamaño de las partículas. A mayor concentración de agentes encapsulantes mayor fue el tamaño de partícula de las microcápsulas. A medida que el pH varió de 4 a 8, las capas adsorbidas de polímero alrededor del material de la dieta fueron mas extendidas. Todas las microcápsulas obtenidas fueron del tipo matriz en el cual, las micropartículas de la dieta se distribuyen dentro de la matriz que conforma el material de pared. Los datos de disolución experimental siguieron un modelo cinético de primer-orden. La eficiencia de encapsulación de aceite fue mayor a pH 4 que a pH 8, existiendo una interacción significativa entre el pH y el tipo de mezcla para la pared. Los mejores parámetros de barrera a la oxidación fueron para las microcápsulas de goma de mezquite 100%, seguidas de las de maltodextrina 100%, a pH 8, con Ea=296 y 229 kJ/mol, respectivamente. En adsorción de agua, coincidieron como buenos tratamientos aquellos seleccionados por sus tiempos característicos de disolución y flotabilidad. El bioensayo corroboró como mejor dieta, la seleccionada por los parámetros estudiados. Como resultado se determinó que las mejores microcápsulas podrían seleccionarse usando como criterios los tiempos característicos de disolución y flotabilidad, primordialmente, considerando además los otros parámetros determinados, sin tener que realizar bioensayos, siempre y cuando se cuente con una dieta previamente probada

Baker

A la memoria de la M. en C. MARTHA PATRICIA CHÁVEZ MARTÍNEZ. q.e.p.d.

Este proyecto se llevó a cabo con el apoyo de la Universidad Iberoamericana a través del proyecto PC-Y10, de la Facultad de Química de la UNAM, de la UAM-I, del CONACyT a través de los proyectos 25153-B y 3293P-N9607, de la DGAPA de la UNAM por medio del proyecto IN214596 y del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares a través del convenio UIA-ININ, bajo la asesoría del **Dr. Jaime Vernon Carter**, de la **Dra. Carmen Durán Domínguez** y del **Dr. Sergio Trejo Martínez**

Agradecimientos

A los Doctores Gabriela Gaxiola, Tsai García, Carlos Rosas, Alfredo Sandoval, José de Jesús Álvarez, Jesús Sánchez García, Mariusz Janczur y al M.en C. Martín Rivera.

Al Ing. Abelman Bravo, Biól. Guillermina González, Lic. Leticia Carapia, M.C. Jesús Arenas, M.C. Gilberto Mondragón, Biól. Samuel Macías, Biól. Pedro Gallardo y Téc. Miguel Sánchez Rayas.

Dedicatoria

A aquellos que tanto amo y que compartieron conmigo todo lo aquí involucrado: mis hijas Ruth y MariMeche; Luis Miguel, mi madre y hermanos, mis tíos Pepe y Chelo, Elvia y mis amigos muérganos.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Antecedentes	3
Enzimas digestivas de los crustáceos	8
Los sistemas de microencapsulación	9
2.1 Objetivos	13
2.2 Hipótesis	13
3. Materiales y Métodos	14
Materiales	14
Composición de la dieta	14
Diseño experimental	14
Formación de las microcápsulas	15
Tamaño de partícula de las microcápsulas	16
Determinación de la morfología microestructural	17
Estructura interna de las microcápsulas	17
Disolución	17
Modelo cinético de disolución	17
Flotabilidad	19
Modelo cinético de flotabilidad	19
Capacidad encapsulante de aceites	21
Evaluación de las características de las microcápsulas como barrera a la oxidación	21
Adsorción de agua	22
Análisis de la transferencia de masa a través de la ecuación de difusión	24
Aproximación del peso molecular promedio de la goma de mezquite	26
Bioensayo de sustitución de nauplios de <i>Artemia</i> por alimento microencapsulado	27
4. Resultados y discusión	30
Microestructura de las microcápsulas	34
Cinética de disolución	40
Interpretación de la disolución de los microencapsulados a partir de la ecuación de difusión con difusividad variable	46
Cinética de flotabilidad	46
Capacidad encapsulante de aceites y evaluación de la resistencia a la oxidación	48
Ensayo de adsorción de agua	54
Resultados del bioensayo	57
5. Conclusiones	60
6. Bibliografía	62
Apéndices	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Formulación de la dieta para larvas de camarón	14
Cuadro 2. Diseño experimental de mezclas para los polímeros seleccionados como formadores de pared de las microcápsulas	15
Cuadro 3. Características y número de código de los cuatro experimentos de microencapsulación	15
Cuadro 4. Diseño experimental para el bioensayo	27
Cuadro 5. Esquema de alimentación con alimento vivo usado en el bioensayo con <i>Litopenaeus vannamei</i>	29
Cuadro 6. Raciones de alimento utilizadas en el bioensayo	29
Cuadro 7. Ecuaciones predictivas para determinar la media volumétrica del tamaño de partícula de los microencapsulados	30
Cuadro 8. Tiempos característicos de disolución (min) de los experimentos y tratamientos para elaborar las microcápsulas	44
Cuadro 9. Tiempos característicos de flotabilidad (min) de las microcápsulas de los diferentes tratamientos y experimentos	46
Cuadro 10. Microcápsulas seleccionadas después de aplicar los criterios de discriminación	47
Cuadro 11. Contenido de aceite superficial de los microencapsulados	48
Cuadro 12. Datos obtenidos de las curvas de CDB por el método ASTM, de las microcápsulas elaboradas a pH 4	53
Cuadro 13. Datos obtenidos de las curvas de CDB por el método ASTM, de las microcápsulas elaboradas a pH 8	54
Cuadro 14. Parámetros de desarrollo evaluados en el bioensayo con larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> probando dos tipos de microcápsulas	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva Típica de la cinética de disolución de las dietas microencapsuladas	18
Figura 2. Curva típica de la cinética de flotabilidad de las dietas microencapsuladas	20
Figura 3. Dispositivos para la determinación de adsorción de humedad en los microencapsulados	23
Figura 4. Curvas de viscosidad reducida-concentración para soluciones diluidas de goma de mezquite	28
Figura 5. Superficies de respuesta para la distribución de tamaño de partícula	31
Figura 6. Micrográficas mostrando la topografía externa de (a) tratamiento MD100, experimento E-421; (b)tratamiento GA100, experimento E-431 y (c) tratamiento GA100, experimento E-421	35
Figura 7. Micrografía de microcápsulas GA17-GM17-MD66, Experimento E-421	37
Figura 8. Micrografía de las microcápsulas del tratamiento GA50-GM50, experimento E-831	38
Figura 9. Micrográficas de la topología de (a) tratamiento GA100, experimento E-431 y (b) tratamiento GM100, Experimento E-831	39
Figura 10. Micrográficas de la estructura interna de (a) tratamiento GA50-MD50, experimento E-421; (b) tratamiento GA50-MD50, experimento E-431 y (c) tratamiento GA100, experimento E-431	41
Figura 11. Micrográficas de una sección de la pared (a) tratamiento GA100, experimento E-421 y (b) tratamiento GA100 del experimento E-431	42
Figura 12. Micrográficas de microcápsulas seccionadas de (a) tratamiento GA66-GM17-MD17, experimento E-821 (b) tratamiento GA33-GM33-MD17, experimento E-831	43
Figura 13. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas GA100, pH 4, relación 3:1	50
Figura 14. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas GM100, pH4, relación 3:1	51
Figura 15. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas MD100, pH 8, relación 3:1	52
Figura 16. Curva típica de la adsorción de agua de las microcápsulas cuando la relación encapsulante:dieta fue de 2:1	55
Figura 17. Curva típica de la adsorción de agua de las microcápsulas cuando la relación encapsulante:dieta fue de 3:1	56
Figura 18. Micrográficas de las microcápsulas después del almacenamiento durante cuatro semanas a 74 % HR	58
Figura 19. Micrográficas de las microcápsulas después del almacenamiento durante cuatro semanas a 74 % HR	59

NOMENCLATURA

C	notación para la variable concentración
C_s	concentración de equilibrio del soluto
t	tiempo (min)
τ_d	constante de tiempo de disolución
f	flotabilidad (% de transmitancia)
τ_f	constante de tiempo de flotabilidad (min)
k	constante de velocidad de reacción (min^{-1})
Z	factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius (min)
E_a	Energía de activación (kJmol^{-1})
T_{MP}	flujo de calor ($\frac{^\circ\text{C}}{\text{min}}$)
R	constante de los gases ideales ($\frac{\text{J}}{\text{K mol}}$)
T	temperatura absoluta (K)
w_i	fracción peso de la especie en el líquido ($\frac{\text{g}}{\text{mL}}$)
D	coeficiente de difusión ($\frac{\text{m}^2}{\text{s}}$)
M	peso molecular
M_0	peso molecular inicial
M_∞	peso molecular a tiempo infinito
θ	variable adimensional para la relación de fracción peso
τ	variable adimensional relacionada al tiempo
ξ	variable adimensional para la posición
J_d	flux de masa ($\frac{\text{g}}{\text{cm}^2\text{h}}$)
\mathcal{D}	disolución por partícula
n_p	número de partículas
V	volumen de la fase líquida (mL)
η	viscosidad intrínseca
η_{red}	viscosidad reducida
K, a	constantes de la ecuación de Khun-Mark-Houwink
GA	goma arábiga
GM	goma de mezquite
MD	maltodextrina

RESUMEN

En este estudio se encapsuló por secado por aspersión, una dieta para larvas de camarón, utilizando como agentes encapsulantes a la goma arábica, la goma de mezquite y la maltodextrina, solos y mezclados de acuerdo a un diseño experimental de tres componentes, Simplex Centroid. Se realizaron cuatro experimentos con dos valores de pH, 4 y 8 y dos relaciones de material encapsulante:dieta, 2:1 y 3:1. Se determinó la morfología y la microestructura interna de las microcápsulas, así como sus tasas de disolución y flotabilidad. Se evaluó la disolución de las microcápsulas a partir de la ecuación de difusión. Para evaluar la capacidad encapsulante de la fracción lipídica de la dieta y las propiedades de barrera a la oxidación, se microencapsuló aceite de hígado de bacalao con las condiciones descritas antes. Todas las microcápsulas fueron evaluadas en cuanto a aceite superficial. Se determinó la cinética de oxidación del aceite por medio de calorimetría diferencial de barrido, en régimen dinámico. Se calcularon los parámetros de Arrhenius, Z, E_a y k. Se determinó la capacidad de adsorción de agua manteniendo las microcápsulas en una atmósfera de humedad relativa de 74%. Se efectuó un bioensayo con *L. vannamei*, utilizando la mejor dieta microencapsulada. La metodología de superficie de respuesta indicó que las tres variables utilizadas, tipo de polímero, pH y concentración, tuvieron efecto sobre el tamaño de partícula, la morfología y la microestructura interna, lo cual también fue puesto en evidencia por los estudios de microscopía electrónica. Las ecuaciones predictivas indicaron que las interacciones binarias entre los polímeros fueron las que afectaron significativamente el tamaño de las partículas: A mayor concentración de agentes encapsulantes, mayor tamaño de partícula de las microcápsulas. A medida que el pH varió de 4 a 8 las capas adsorbidas de biopolímero alrededor del material de la dieta fueron más extendidas. Todas las microcápsulas obtenidas fueron del tipo matriz, donde las micropartículas de la dieta se distribuyen dentro del material de pared. Los datos de disolución siguieron un modelo cinético de primer orden y los de flotabilidad, uno de decaimiento, también de primer orden. La eficiencia de encapsulación de aceite, fue mayor a pH 4 que a pH 8, existiendo una interacción significativa entre el pH y el tipo de mezcla para la pared. Los mejores parámetros de barrera a la oxidación fueron para las microcápsulas de goma de mezquite 100% a pH 8, con $E_a = 296$ kJ/mol. En adsorción de agua, coincidieron como buenos tratamientos aquellos seleccionados por sus tiempos característicos de disolución y flotabilidad. El bioensayo corroboró como mejor dieta, la seleccionada por los parámetros estudiados. Como resultado se determinó que las mejores microcápsulas podían seleccionarse usando como criterios los tiempos característicos de disolución y de flotabilidad primordialmente, considerando además los otros parámetros determinados, sin tener que realizar ensayos, siempre y cuando se cuente con una dieta previamente probada.

ABSTRACT

A shrimp feedstuff was microencapsulated through spray drying using biopolymer treatments as wall materials after a three component Simplex Centroid experimental design. Encapsulating agents were arabic gum, mesquite gum, and maltodextrin, alone and in mixtures. wall material to feedstuff ratios studied were 2:1 and 3:1, and pH values of 4 and 8. Morphology and microstructure of the microcapsules were evaluated. Synthetic sea water was used to evaluate the microcapsules dissolution and floatability rates. An empirical equation was obtained to represent the dissolution phenomena. Encapsulating ability of each polymer was determined by the encapsulation of cod liver oil. The evaluation considered the amount of oil present in the outer surface of the microcapsules. Oil oxidation kinetics was also measured using differential scanning calorimetry, DSC, at dynamic conditions. Arrhenius parameters, Z , E_a , and k , were obtained from these data. Water adsorption was also evaluated keeping the microcapsules in a controlled humidity and temperature atmosphere (74%, 29°C). Bioassays were carried out with *L. vannamei* using the best encapsulated diets. The response surface methodology indicated that the three above mentioned variables affected the microcapsule particle size and microstructure, as evidenced by scanning electronic microscopy. Predictive equations show that the factor that affected significantly the microcapsule particle size was the binary interactions among the biopolymers. The higher the wall material-feedstuff ratio the larger the microcapsule particle size. As pH varied from 4 to 8, the biopolymer adsorbed layer around the core material were more extended. All the resulting microcapsules were of the type in which the feedstuff microparticles were distributed within the solid wall material matrix. The experimental dissolution data followed a first-order kinetics model, whilst the experimental floatability data followed a first-order decay model. Oil encapsulation efficiency was better at pH values of 4 more than at 8. There is a significant interaction between pH values and wall materials. The best conditions found to avoid oxidation were the ones given by mesquite gum, followed by maltodextrin at pH equal to 8 with an activation energy of 296 and 229 kJ/mol, respectively. Concerning water adsorption the best treatments were those selected by their characteristic times of dissolution and floatability. As a result, it was determined that the best microcapsules could be selected by using the characteristic dissolution and floatability parameters as screening criteria, without having to carry out cumbersome bioassays with all the experimental diets.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los puntos críticos de la camaronicultura es el suministro adecuado de larvas, las cuales se producen en laboratorios especializados. Dentro de los factores biotécnicos que intervienen en esta operación, la alimentación y las enfermedades son los más importantes, ya que ello afecta la sobrevivencia. Una alternativa para esta problemática, la constituye el uso de alimentos de alta calidad que mantengan un ambiente saludable, reduzcan el riesgo de enfermedades y que permitan disminuir los costos del alimento vivo.

La investigación tecnológica para la elaboración de alimentos balanceados de alta calidad para larvicultura, ha dado como resultado la aparición de dietas microligadas y microencapsuladas, ambas con gran potencial de uso, siempre y cuando cumplan con las características de aceptabilidad, digestibilidad, adecuado tamaño de partícula y muy importante, con buena estabilidad en el sistema acuoso. En el presente trabajo se plantea la microencapsulación usando polisacáridos como agentes encapsulantes, para la microencapsulación de una dieta balanceada cuyo aporte nutritivo ha sido demostrado. Dado que entre los polisacáridos seleccionados, dos de ellos son polielectrolitos, se dispuso evaluar el efecto del pH sobre las características de los microencapsulados. Al mismo tiempo, se determinó de entre dos concentraciones, cual era la de mayor eficiencia encapsulante.

Como técnica de encapsulación se ha elegido al secado por aspersión, por su facilidad de operación. Se caracterizó la morfología y la microestructura de las cápsulas y en virtud de que el comportamiento en el agua es un factor crítico, se realizaron tanto la cinética de disolución como la de sedimentación, buscando determinar si ambos parámetros podrían ser utilizados como criterios de selección de las dietas antes de ser evaluadas en bioensayos.

2. ANTECEDENTES

Existe una problemática generalizada en la formulación y evaluación de proyectos, tanto de langostino como de camarón, que se refiere a los niveles de producción que se quieren obtener sobre todo en el primer ciclo o etapa larvaria, donde se tiene un período de inducción o retardo que dificulta la producción posterior.

De manera general, el cultivo en las fases larvarias, se ha basado en alimento planctónico vivo, tal como microalgas y *Artemia salina* (Preston y col., 1992; Ben-neman, 1992). Las dificultades que implica el escalamiento para la producción de este tipo de alimento, han conducido a la búsqueda y propuesta de otro tipo

de productos tales como algas conservadas, levaduras y en algunos casos, hasta pasta de soya, sobre todo cuando se presenta escasez de alimento (Piedad-Pascual y Sumalangcay, 1990; Lim y Dominy, 1990; Ottogalli, 1991; Brown y col., 1997).

El uso de *Artemia* tiene la desventaja de un alto costo y variaciones ocasionales en la calidad (Jones y cols, 1984; Villamar y Brusca, 1987; Mourente y Rodríguez, 1997). No obstante, debe mencionarse que hay varios informes que señalan que cuando se alimentan larvas con dietas deficientes en *Artemia* hay una reducción en la sobrevivencia y/o en la tasa de crecimiento (Villamar y Brusca, 1987). Como alternativa económica, se ha ensayado en la producción comercial de rotíferos (Villegas y Kanazawa, 1980) y actualmente, la tendencia es hacia la búsqueda de sustitutos de alimentos vivos por alimentos inertes tales como dietas artificiales microparticuladas o microencapsuladas (Flores, 1988; Kanazawa y Teshima, 1988; Sorgeloos y Léger, 1992; Muir y Sutton, 1994; Jones, 1995).

Las partículas artificiales son aceptables para una variedad amplia de organismos marinos. Sin embargo, las dietas suministradas como partículas divididas finamente por ejemplo de huevo cocido o pescado picado o absorbidas en la superficie de las partículas, invariablemente se dispersan en el medio acuoso provocando la contaminación bacteriana. Entonces, surgen como una opción los alimentos microencapsulados a partir de una tecnología desarrollada por primera vez en el Reino Unido de la Gran Bretaña (Gardner, 1966). Sin embargo, la situación no ha sido sencilla, sobre todo si se considera que la pared que forma la microcápsula, debe ser lo suficientemente delgada para asegurar que en el trayecto del alimento por el tubo digestivo de las larvas en estado de protozoa, el cual dura de 7 a 12 minutos, éste sea aprovechado.

Con la microencapsulación se pretende atender la necesidad de desarrollo de tecnologías que eliminen o disminuyan las dificultades que representa la alimentación de la fase larvaria, considerando que las funciones de la microencapsulación son: Protección contra el deterioro por efecto del oxígeno y otros gases, control de la adsorción y absorción de humedad, manejo de materiales líquidos y sólidos, control sobre la liberación del material microencapsulado y protección contra la contaminación microbiana.

Ya existe la elaboración comercial de alimentos microencapsulados, cuyo precio en nuestro país es muy elevado. Cabe mencionar que, además de tratarse de una tecnología patentada, aún no ha llegado a un grado de refinamiento tal que se pueda sustituir al alimento planctónico (Cruz y Ortega, 1989; Sorgeloos y Léger, 1992; Chamberlain, 1995).

El uso de las técnicas de microencapsulación para la elaboración de las dietas para larvas acuáticas ha cobrado relevancia en los últimos años. El tipo de cápsulas que se requiere depende del método de alimentación. Tanto para larvas como para los adultos, las cápsulas deben ser rotas mecánicamente para permitir que el contenido sea ingerido o bien ser susceptibles de hidrólisis enzimática.



Jones y Gabbott (1976) experimentaron una dieta consistente de una solución acuosa de 5% de almidón soluble y 10% de hemoglobina y las cápsulas fueron preparadas con una pared de nylon-proteína, adicionando ácido diamino-difenildisulfónico para proporcionar a la membrana una carga negativa la cual reduce la agregación de las cápsulas y para incrementar la fragilidad de la membrana de tal manera que sea más fácilmente rota durante la alimentación. La desventaja de las cápsulas de nylon-proteína es que la pared de la cápsula es permeable a moléculas pequeñas, de tal forma que sólo los componentes macromoleculares de la dieta pueden estar contenidos en la microcápsula.

Möller y colaboradores (en Jones y col., 1979) describieron experimentos en los cuales las larvas mysis de *P. merguensis* fueron desarrolladas hasta postlarvas PL2 con una dieta microencapsulada, lo mismo que zoeas Z-1 de *M. japonicus*, hasta PL1.

Jones y colaboradores (1979) produjeron dietas microencapsuladas y microparticuladas utilizando, para la microencapsulación, la polimerización interfacial, teniendo mucho cuidado en eliminar todos los materiales tóxicos de las microcápsulas, enjuagándolas perfectamente con agua. Experimentaron con larvas de *M. japonicus* y encontraron que podría lograrse una sobrevivencia de hasta 68%. Evaluaron diferentes tamaños de microcápsulas informando que para el estado zoea, 10 micrómetros era el adecuado, mientras que para mysis podría tenerse un tamaño mayor (28 μm).

Kanazawa y colaboradores (1982) elaboraron microcápsulas por medio de polimerización cruzada entre nylon y proteína para alimentar larvas de *Chrysophrys major* y *Plecoglossus altivelis* e informaron que las larvas no pudieron digerir las microcápsulas.

Teshima y colaboradores (1982) reconocen también, que el cultivo de alimento vivo requiere de mano de obra excesiva y equipos costosos e involucra fluctuaciones en calidad por lo que destaca la necesidad de producir alimentos artificiales que resuelvan esta problemática. Señalan que las dietas para larvas deberan ser partículas pequeñas (5 - 300 μm de diámetro) y ser estables en agua durante un tiempo considerable hasta que las larvas las consuman, con ingredientes bien balanceados

y digeribles en el tracto intestinal. Más aún, el tamaño de partícula y la gravedad específica de las dietas deben modificarse de acuerdo al estadio de crecimiento. Prepararon dietas microencapsuladas, microligadas, dietas en polvo con un agente ligante, dietas microcubiertas elaboradas a partir de las microligadas y recubiertas con algún material como zeína y colesterol. Como método de microencapsulación se utilizó la polimerización interfacial (cloruro de sebacoilo con los grupos amino de las proteínas de la dieta) siguiendo lo propuesto por Chang y colaboradores (1966) y Jones y colaboradores (1976, 1979). Como conclusión resalta que los mejores resultados se obtuvieron alimentando a las larvas combinando dietas artificiales con alimento vivo y que las mejores dietas fueron aquellas en las que se usó carragenina como ligante o cuando se encapsuló con nylon-proteína o bien la dieta microcubierta con zeína.

Kanazawa y colaboradores (1982) evaluaron 11 dietas microparticuladas y microencapsuladas, ya fuera con nylon-proteína o con membrana de zeína. Reconocieron también las dificultades que involucró la producción de alimento vivo. Mencionan que los ingredientes de la dieta fueron reducidos a un tamaño de partícula de entre 10 y 20 μm . El sistema de microencapsulación, fue el de polimerización interfacial. Alimentaron larvas de *M. japonicus* utilizando las diferentes dietas microparticuladas y obtuvieron supervivencias de 0 hasta 95 días. Sobresalió una dieta de nylon-proteína (tamaño de partícula de 50 a 100 μm) alcanzando el estadio de postlarva PL1 (8 días) con 78% de sobrevivencia y la dieta de cubierta de zeína (tamaño de partícula de 10 a 50 μm) con la que se logró desarrollar a las larvas hasta PL1 (8 días) con 94% de sobrevivencia. Las larvas alimentadas con alimento vivo (*Chaetoceros*, *Artemia*), tuvieron 95% de sobrevivencia (PL1, 7 días).

Estos autores hacen un señalamiento importante con respecto a la estabilidad de las dietas en agua y mencionan que las dietas artificiales no cubiertas tienen una estabilidad baja (3% en 4 horas) lo cual puede mejorarse, encapsulando las partículas con polímeros naturales tales como la gelatina y la zeína (estabilidad 74-79%). Concluyen que las larvas de crustáceos aceptan las partículas alimenticias artificiales y que pueden desarrollarse con este tipo de alimentos.

La importancia del tamaño del alimento en el cultivo de larvas y postlarvas de camarón, también ha sido estudiada por otros investigadores, quienes señalan que, para el caso de larvas protozoa PI, PII y PIII, los tamaños de partícula alimenticia que los organismos prefirieron están entre 9.5 y 20.5 μm para mysis MI, entre 10.4 y 22.7, para MII y MIII, entre 15.1 y 28.2 y en el caso de postlarvas PLI, entre 16.6 y 38.1 (Cruz y Ortega, 1989). Para postlarvas avanzadas, Jaime y García (1990), recomiendan que el tamaño del alimento esté dentro de los intervalos siguientes: Para postlarvas con pesos entre 45 y 116 mg, tamaños de partícula de 0.35 a 0.80 mm; postlarvas de entre 116 y 153 mg, el alimento debe medir entre 0.80 y 1.0 mm.

Langdon y colaboradores (1985) revisaron los procesos de elaboración de dietas artificiales. Los métodos de microencapsulación enlistados fueron: Coacervación, polimerización interfacial y cápsulas de lípidos y mencionan al secado por aspersión y a la liofilización. Resaltan que no importa cuál sea el proceso de fabricación, las dietas deben cubrir los criterios siguientes: 1) Aceptabilidad, es decir, las partículas deben tener el tamaño adecuado, disponibilidad en el agua a una densidad similar a la de los alimentos vivos e ingeridas a una tasa similar; 2) Estabilidad, las dietas formuladas deben permanecer estables con la mínima pérdida por lavado y ser rotas hasta que se ingieran; 3) Digestibilidad, las dietas deben ser digeribles y asimilables; 4) Contenido nutrimental similar a los organismos vivos y 5) Almacenamiento con cualidades adecuadas (12 meses).

Levine y colaboradores (1983) afirman que el tipo de cápsulas más promisorias para el estudio de los requerimientos de las larvas de decápodos corresponde a las de alginato de calcio y consideran que este tipo de microcápsulas es superior a las de nylon-proteína. Entre las ventajas más importantes está la versatilidad del tipo de material que puede ser encapsulado, costos de preparación más bajos y menos tiempo de elaboración. Se define como una dieta microencapsulada ideal, a aquella que sea no tóxica, digerible, impermeable o permeable selectivamente para liberar solamente los elementos atrayentes (Castell y Kean, 1986; Villamar y Brusca, 1987).

Bengston (1993) resalta que la evaluación de las dietas involucra algo más que realizar los bioensayos. Hay que tener información, por ejemplo, sobre uno de los factores críticos, como es el comportamiento de la dieta en la columna de agua (flotabilidad, lavado de nutrimentos, etc). Las larvas de crustáceos consumen su alimento en el seno del medio acuoso (Jones y cols., 1997a b; Medina, 1998), entonces, es importante que los alimentos estén disponibles para las larvas, exhibiendo buena flotabilidad, bajas velocidades de sedimentación y bajas tasas de disolución y de lavado de nutrimentos, de tal manera que las dietas mantengan su integridad y retengan su contenido nutricional, resultando efectivamente menos costosas que el alimento vivo. Se ha reconocido que la pérdida de nutrimentos por lavado podría controlarse preparando las dietas por técnicas de microligado o microencapsulación (López Alvarado y col., 1994). También es importante considerar las capacidades digestivas y los requerimientos de las larvas, la aceptación del alimento y lo que ocurre con él dentro del organismo de la larva. Se reconoce, además, la necesidad de integrar un equipo interdisciplinario para la evaluación de las dietas artificiales.

Por último, Jones y colaboradores (1974; 1975; 1979; 1987; 1993; 1995, 1997a, b; c; 1998), al igual que otros autores, mencionan la problemática para el cultivo y manejo del alimento vivo y, que idealmente, el cultivo de las larvas debería consistir simplemente en adicionar cantidades apropiadas de alimentos pre-elaborados. Estos

autores resumen los esfuerzos realizados por diferentes grupos de trabajo, donde en prácticamente todos los casos corresponden a uno de dos tipos de dietas: microencapsuladas o microparticuladas. Las primeras se refieren al uso de la polimerización como metodología de encapsulamiento y las segundas, a dietas adicionadas de agentes ligantes (hidrocoloides) para mantener a los ingredientes unidos. Estas últimas presentaron, en la mayoría de los casos, problemas de inestabilidad en agua, es decir, de lavado de nutrimentos y, por tanto, de peligro de contaminación del agua del estanque. Actualmente la investigación se ha orientado hacia la búsqueda de ingredientes digeribles y asimilables, sin olvidar el factor económico. Así, las técnicas de producción de alimentos artificiales se han ido diversificando.

Un proceso poco explorado para este fin es el secado por aspersión, ampliamente utilizado en la tecnología de los alimentos para tratar ingredientes termolábiles. Las características de este proceso se presentan en otro apartado.

Enzimas digestivas de los crustáceos

Lovett y Felder (1990a, b) observaron tres patrones de cambio ontogenético en la actividad enzimática de larvas y postlarvas de *Litopenaeus setiferus*: 1) Proteasas, cuya actividad es baja en nauplio N5, incrementándose hasta un máximo para zoea Z3, disminuyendo hasta un mínimo alrededor de postlarva (PLI), comportamiento que se mantiene hasta PL7, con un incremento ligero durante el último estadio larval; 2) Estearasas, con actividades bajas en nauplio N5, incrementándose hasta un máximo en zoea Z1, disminuyendo hasta un mínimo en mysis MIII y a partir de ese estadio se estabilizan; 3) Amilasas, cuya actividad es relativamente baja en nauplio N5, se incrementa hasta un máximo en MII para disminuir hasta un mínimo en postlarva PLI-PL4. A partir de entonces ocurre un incremento notable durante el desarrollo postlarval remanente.

La relación de la actividad amilasa/proteasa es alta en N5 y MII, pero es baja en Z3. Un incremento en la relación mencionada comienza en PL7 y continúa hasta PL24. La actividad de amilasa esencialmente muestra un comportamiento constante durante el desarrollo larval, pero después de PL4 la actividad se incrementa a través de todo el desarrollo.

Cabe mencionar que dichos autores discuten que las actividades enzimáticas durante el desarrollo postlarval, no son resultado del cambio de la dieta, ya que en sus experimentos ésta no varió, entonces el cambio ontogenético en las actividades enzimáticas representa alguna modificación o cambio asociado con el desarrollo de las larvas. También señalan que los cambios mencionados pueden correlacionarse con la dieta y los hábitos alimentarios.

En el estadio ZI, las larvas de *L. setiferus* comienzan a alimentarse con algas y en ese momento su actividad estearásica es máxima. Al proporcionar nauplios de *Artemia* al comienzo del estadio MI, la actividad de tripsina y carboxipeptidasa A y B en las larvas es máxima en los estadios de Z3 a MI.

En los estadios tempranos de desarrollo, las larvas se alimentan primordialmente por filtración y se convierten en depredadores primarios en MIII. A partir de entonces la eficiencia filtradora comienza a disminuir hasta desaparecer durante PL1; las actividades enzimáticas disminuyen hasta MIII y alcanzan niveles muy bajos en PL1.

No obstante que existe correlación de los cambios ontogenéticos en la actividad enzimática con los cambios en los hábitos de alimentación, los cambios ontogenéticos en la actividad enzimática pueden ser la señal del desarrollo y pueden reflejar una regulación genética temporal de síntesis enzimática, más que un cambio en la dieta.

Jones y colaboradores (1997a, b, c) señalan que una de las principales limitantes para el desarrollo exitoso de dietas artificiales, es el poco conocimiento que se tiene de nutrición de fases larvarias. No obstante, recomiendan que las mejoras en las dietas artificiales se realicen conforme a lo que se sabe de la fisiología digestiva de las larvas. También sugieren la búsqueda de otras estrategias de alimentación. Dado que las larvas aparentemente no incrementan sus niveles enzimáticos digestivos en respuesta a los alimentos artificiales, el único método de cultivo sería el uso de alimento vivo al menos una vez durante el desarrollo larval.

Los sistemas de microencapsulación

La encapsulación puede considerarse una forma especial de empacar, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente e influencias deletéreas. En un sentido amplio, la microencapsulación provee un medio de empacar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas. Las partículas minúsculas o gotitas de casi cualquier material pueden ser encapsuladas dentro de una pared y aisladas de atmósferas dañinas.

La encapsulación es una técnica que se ha aplicado para preservar y/o proteger numerosos ingredientes (Chen y col., 1988). El material que es cubierto se refiere a la fase interna; el material que cubre es llamado la pared. El material de la fase interna que requiere de ser protegido, puede tener casi cualquier propiedad.

A continuación se presentan algunas definiciones: a) La pared o cápsula es el material que envuelve al producto encapsulado. Su componente principal podría ser cualquiera de los siguientes: Gomas solubles en agua, almidones, azúcar, derivados de la celulosa, alcohol polivinílico, gelatina, caseína, formadores de película de muchos tipos usados ya sea solos o en combinación entre sí. Generalmente el material de la pared no reacciona con el producto encapsulado. b) Los agentes tensoactivos, plastificadores, antioxidantes, colorantes, pigmentos, protectores contra la luz UV, etc, son modificadores que se utilizan en combinación con los materiales de la pared para asegurar la encapsulación deseada. Los tensoactivos son los ingredientes más importantes en la formación de la pared o cápsula. Ellos inducen la encapsulación y la adhesión del material de la pared alrededor del producto a ser encapsulado (Balassa y Brody, 1968). Las cápsulas pueden secarse con alcohol anhidro, con cloruro de calcio, al vacío y con calor radiante o por liofilización o por destilación azeotrópica. c) El líquido de proceso es llamado también líquido de suspensión. Por lo general, pueden ser agua, aceites vegetales, silicones, ceras líquidas, etc.

Históricamente, la microencapsulación fue introducida de manera comercial en 1954 como un medio de hacer copias múltiples sin el uso de papel carbón (Gardner, 1966). Hay diferentes métodos para microencapsular, entre ellos, los más utilizados son la coacervación, la polimerización (interfacial o por coacervación), el secado por aspersión, la gelación iónica, etc (Luzzi, 1970).

De manera general, puede decirse que la coacervación (simple y compleja) involucra la floculación o separación de líquidos de una solución, donde al menos uno de los líquidos contiene un soluto coloidal. Este sistema de microencapsulación se caracteriza porque el material activo se suspende primero en una solución del material que forma la pared capsular. Se induce a que la pared polimérica se separe como una fase líquida, mediante la adición de un no-solvente para el polímero, disminuyendo la temperatura o adicionando un inductor de fase, como sería otro polímero que tenga alta solubilidad en el solvente previamente añadido. En este caso, la incompatibilidad entre los dos polímeros causa que el primer polímero se separe como otra fase. Cuando la pared polimérica se separa como una fase líquida rica en polímero, esta fase es llamada un coacervado y el proceso, coacervación. A medida que el coacervado se va formando, debe humedecer las partículas o gotitas suspendidas del material central en una fase continua. El paso final es el endurecimiento y el aislamiento de las microcápsulas, que es usualmente el paso más difícil del proceso (Kirk-Othmer, 1981).

Como contraste, la coacervación compleja ocurre sólo cuando dos o más coloides de carga opuesta están presentes. En el caso de la gelatina y la goma arábiga, se forma un coacervado complejo entre la goma arábiga cargada negativamente y la gelatina cargada positivamente (a pH abajo de su punto isoelectrico). La coacervación compleja no puede ocurrir en soluciones concentradas, sino solamente en soluciones diluidas aún en diluciones tan bajas como 0.001% (Watanabe y Hayashi, 1976).

La polimerización interfacial es un proceso químico que depende de la generación de un polímero por la reacción, en la interfase, de solutos presentes en las fases acuosas y orgánicas respectivamente. Se requiere de la ayuda de solventes y/o detergentes y ajustando las condiciones de la reacción, puede variarse el tamaño de las partículas (Chang y col., 1966).

El secado por aspersión es uno de los métodos más utilizados actualmente para microencapsular. Su principio es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión, quede atrapado dentro de una película de material encapsulante.

Las primeras aplicaciones industriales del secado por aspersión correspondieron a la leche y a los detergentes y en el presente tiene una infinidad de aplicaciones donde sobresalen la industria de alimentos y la farmacéutica (Takenaka y col., 1982; Masters, 1985; Sankarikutty y col., 1988).

El secado por aspersión consiste en cuatro etapas de proceso: La atomización del fluido para tenerlo asperjado; el contacto del producto rociado con el aire; su deshidratación y la separación del producto seco (Masters, 1985).

En cuanto a aplicaciones para alimentos de acuicultura, este sistema se ha utilizado en la deshidratación de cultivos del alga *Tetraselmis suecica* para alimentar a nauplios de *P. vannamei*, encontrando que el alga seca podía utilizarse sustituyendo hasta en un 75% al alimento vivo (Biedenbach y col., 1990) y también se ha utilizado como alimento de bivalvos (Lang y Gil, 1991).

Uno de los factores de mayor relevancia en la encapsulación utilizando el secado por aspersión, lo constituye la adecuada selección del material que forma la pared de la microcápsula y el nivel de concentración utilizado (Karel, 1990; Pothakamury y Barbosa-Canovas, 1995). Se han utilizado diferentes polímeros de grado alimenticio tales como la goma arábiga, almidones, maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, etc., sin embargo ningún material por sí solo muestra un comportamiento ideal.

Entonces, parece urgente el contar con un polímero con propiedades tensoactivas, soluble en agua y accesible económicamente (Bangs y Reineccius, 1989). En

México, ante la gran diversidad de materiales vegetales, la goma de mezquite se presenta como una opción con potencial para la resolución del problema mencionado, ya que ha mostrado ser capaz de estabilizar eficientemente las emulsiones acuosas (Vernon-Carter, 1981; Vernon-Carter y Sherman, 1981a b; Vernon-Carter y col., 1996; 1998; 1999; Beristain y Vernon-Carter, 1995).

La gelación iónica es otro sistema de microencapsulación que surgió a partir del interés en inmovilizar células de plantas y animales. La inmovilización se realiza formando partículas que incluyan a las células. Estas partículas las protegen y en algunos casos dichas partículas son microcápsulas con un centro líquido rodeadas de una membrana semi-permeable que retiene los productos celulares deseados. En otros casos, las partículas son lechos de gel porosos permeables (Thies, 1986). El proceso involucra el goteo de una suspensión de células-alginato en una solución diluida de cloruro de calcio para formar lechos de alginato de calcio. Se llevan a cabo una serie de lavados y tratamientos para transformar los lechos gelificados en microcápsulas con un centro líquido rodeado por una membrana semi-permeable de hidrogel. La membrana es un polielectrolito complejo de alginato-policación.

Con la información hasta aquí presentada, se puede vislumbrar lo complejo de la situación de la elaboración de alimentos balanceados para larvas de crustáceos y de la necesidad de continuar la investigación al respecto.

Hay varios criterios que, desde el punto de vista de esta investigación, son cruciales. En el caso de dietas microencapsuladas, en primer lugar hay que insistir en destacar las características de la pared que las forman, ya que de ello dependen sus propiedades. De acuerdo a la revisión de las diversas investigaciones sobre el tema, la gran mayoría, involucran a la polimerización interfacial como sistema de microencapsulación siguiendo lo propuesto por Chang y colaboradores (1966). La pared estuvo constituida en un principio por un complejo nylon-proteína, que por problemas de toxicidad de los solventes utilizados, fue sustituida por una de proteína-proteína.

Como es sabido, las proteínas en sí mismas son polímeros complejos que si además, se hacen reaccionar entre sí, involucran enlaces complejos, tales como puentes disulfuro (muy estables), enlaces hidrofóbicos, puentes de hidrógeno, etc, es decir, los tipos de enlace son altamente heterogéneos, lo cual podría explicar el bajo éxito en algunos casos, quizá debido a la digestibilidad baja de los alimentos probados.

Si la pared de las microcápsulas está constituida por polisacáridos, se espera tener mayor homogeneidad en los enlaces que se formen entre cadenas, con predominio de los puentes de hidrógeno, dada la naturaleza de los carbohidratos.

Por otra parte, en un proceso industrial resulta muy importante encontrar la ruta más sencilla y eficiente y probablemente el secado por aspersión, cubra esta premisa mejor que cualquiera de los otros sistemas de microencapsulación.

2.1 OBJETIVOS

1. Determinar el efecto del uso de goma de mezquite, goma arábiga y maltodextrina 10 DE y sus mezclas como materiales de pared, en las propiedades físicas y en la microestructura de dietas microencapsuladas para larvas de camarón.

2. Caracterizar el comportamiento de las microcápsulas en cuanto a su flotabilidad y disolución en el medio acuoso salino.

3. Determinar la posibilidad de utilizar las tasas de disolución y de flotabilidad para ser usadas como parámetros de selección de dietas, con base en los fenómenos de transferencia de masa del interior de la microcápsula al medio salino.

4. Evaluar el efecto de barrera a la oxidación que ofrecen los tres biopolímeros que conforman la pared de las microcápsulas, para proteger a los ácidos grasos contenidos en la dieta, del oxígeno y la humedad atmosféricos.

2.2 Hipótesis

1. Es posible elaborar dietas microencapsuladas para larvas de crustáceos, utilizando polisacáridos como agentes formadores de pared.

2. Es posible establecer que la transferencia de masa del agua a partir de la tasa de disolución, comparando con la tasa de flotabilidad, son los factores controlantes para identificar los mejores tratamientos de microcápsulas.

3. Las mezclas de biopolímeros que conforman la pared pueden constituirse como una buena barrera a la oxidación y a la humedad para minimizar la transferencia de moléculas oxidantes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Como agentes encapsulantes se utilizaron la goma arábica (Acacia senegal) (GA) comercialmente denominada "Spray-gum" obtenida por la compañía Colloids Naturels (Marsella, Francia); la goma de mezquite (Prosopis juliflora) (GM) recolectada en el Estado de San Luis Potosí y purificada según lo recomendado por Vernon-Carter y col., (1996) y una maltodextrina comercial "Amidex 10" con un equivalente de dextrosa de 10 (MD) de Arancia S.A. de C.V., México.

Composición de la dieta

La formulación de la dieta a ser encapsulada fue sugerida para *P. schmitti* y se presenta en el cuadro 1 (Gaxiola, 1991).

Diseño experimental

Los tres biopolímeros GA, GM y MD fueron mezclados de acuerdo a un diseño experimental Simplex Centroid (Hare, 1974) el cual se muestra en el cuadro 2. Se probaron los dos valores de pH mencionados y dos relaciones de agentes encapsulantes con respecto a la dieta, 2 a 1 y 3 a 1, dando lugar a los 4 experimentos que se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 1. Formulación de la dieta para larvas de camarón

Ingredientes	Porcentaje (peso/peso)
Harina de pescado	27.0
Harina de calamar	17.0
Harina de camarón	17.0
Levadura de cerveza	15.0
Harina de soya desgrasada	14.0
Almidón	1.5
Aceite de hígado de bacalao	2.0
Aceite de girasol	2.0
Colesterol	0.5
Premezcla de vitaminas	1.0
Premezcla de minerales	1.5
Vitamina C	0.5
Lecitina de soya	1.0

Formación de las microcápsulas

Dado que las moléculas de las gomas arábica y de mezquite son polielectrolitos, su configuración cambia con el pH. Por lo tanto, las mezclas que se presentan en el cuadro 2, fueron dispersadas en soluciones amortiguadoras valores de pH de 4.0 y 8.0, respectivamente. Para el valor de pH de 4.0 se utilizó una solución amortiguadora 0.01 M de ácido acético/acetato de sodio, 0.05 M NaCl (20°C) y para el de 8 se empleó una de 0.01 M de fosfato monosódico, 0.05 M NaCl (20°C) (Beynon y Easterby, 1996).

Cuadro 2. Diseño experimental de mezclas para los polímeros seleccionados como formadores de la pared de las microcápsulas

Codificación del tratamiento	Goma arábica	Goma de mezquite	Maltodextrina
GA100	100	0	0
GM100	0	100	0
MD100	0	0	100
GA50-GM50	50	50	0
GA50-MD50	50	0	50
GM50-MD50	50	0	50
GA33-GM33-MD33	33	33	33
GA66-GM17-MD17	66	17	17
GA17-GM66-MD17	17	66	17
GA17-GM17-MD66	17	17	66

Cuadro 3. Características y número de código de los cuatro experimentos de microencapsulación

Código del experimento	pH	Relación material encapsulante:dieta
E-421	4.0	2:1
E-431	4.0	3:1
E-821	8.0	2:1
E-831	8.0	3:1

Los ingredientes de la dieta fueron finamente molidos en un molino SAMAP Electric Cereal Mill modelo F100 (Andolshein, Francia), con piedras de molienda

ajustables. Las harinas resultantes se mezclaron durante 10 minutos en una mezcladora Hobart N-50 (Troy, OH, EEUA). Transcurrido ese tiempo, se añadieron los ingredientes líquidos como los aceites de hígado de bacalao y de girasol y se mezcló durante 10 minutos más.

Las masas resultantes se adicionaron con agitación continua a las dispersiones acuosas de los biopolímeros en proporciones tales que después del secado por aspersión se obtuvieran los cuatro tipos de microcápsulas de los experimentos señalados en el cuadro 3. En todos los casos, el contenido de sólidos totales fue del 25% (p/p) antes del secado.

Las dispersiones acuosas fueron deshidratadas en un secador por aspersión Mobile Minor Niro-Atomiser (Copenhague, Dinamarca), equipado con un atomizador centrífugo. La dispersión fue alimentada al secador a una tasa de 20 mL /min, donde se utilizó una presión de aire de 2 bar y la temperatura del aire de entrada fue $170 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$, parámetros recomendados por Ashrady (1993) cuando se usa goma arábica como material de pared.

Tamaño de partícula de las microcápsulas

La media volumétrica del tamaño de partícula de cada polvo seco se determinó por medio de un analizador de rayo Láser Malvern Particle Size and Distribution Analyser serie 2600 (Malvern Instruments, Malvern, Worcs, UK) y se define como (Sherman, 1968):

$$D_{4,3} = \sqrt{\frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i}} \quad (1)$$

Donde n_i es el número de microcápsulas con diámetro d_i .

La media volumétrica del tamaño de las microcápsulas se obtuvo aplicando un análisis estadístico log-normal a los datos de distribución de tamaño de partícula (Masters, 1985).

Todas las determinaciones fueron hechas con agitación baja constante para prevenir la agregación (Jalil y Nixon, 1990).

La metodología de superficie de respuesta de la media volumétrica del tamaño de partícula, produjo los modelos polinomiales que determinan la influencia del tipo de mezcla de biopolímeros que conforma la pared de las microcápsulas, en el tamaño de partícula. El análisis de los datos fue hecho utilizando el paquete computacional estadístico Statgraphics

Determinación de la morfología microestructural

Las microcápsulas fueron colocadas sobre los portamuestras del microscopio electrónico de barrido (MEB), utilizando una cinta de carbón adhesiva (Ted Pella, Redding, CA) y cubiertas con una delgada capa de oro por medio de un evaporador Fine Coat Ion Sputter JFC 1100 (JEOL Ltd, Akishima, Japan).

Para visualizar la morfología de las microcápsulas se utilizó un MEB de alto vacío JEOL JMS-35 (JEOL, Ltd, Akishima, Japón) a 15 kV. Se seleccionaron algunas micrografías representativas para presentarse en el cuerpo del presente documento.

Estructura interna de las microcápsulas

Las microcápsulas se fracturaron por medio de una navaja golpeando perpendicularmente una capa de cápsulas adheridas al portamuestras del MEB, previamente provistos de la cinta de carbón doble adhesiva mencionada antes (Sheu y Rosenberg, 1995). Se utilizó un MEB Phillips XL30 con una resolución de 3.5 nm. Se utilizaron dos tipos de técnicas (Rosenberg y col., 1985): 1) Electrones retrodispersos (back scattering electrons) y 2) Electrones secundarios También se seleccionaron algunas micrografías representativas.

Disolución

La disolución de las microcápsulas se determinó en un sistema de agua de mar (30 ppt, pH 8.0). Se pesaron con exactitud aproximadamente 0.3 g de microcápsulas de cada tratamiento y se colocaron en seis tubos de ensayo añadiéndose a cada uno 25 mL de agua de mar. Los tubos fueron colocados en un baño de agua de temperatura controlada a $28.0 \pm 1^\circ\text{C}$. Esta temperatura corresponde a la utilizada en los laboratorios de producción comercial de larvas de camarón. Cada tubo se retiró de acuerdo a un programa de tiempo de residencia, a los 15, 30, 60, 120 y 240 minutos respectivamente y el contenido se filtró al vacío utilizando papel filtro Whatman No. 40. El filtrado se secó a 60°C hasta alcanzar el peso constante (Jayaram y Shetty, 1981). La disolución fue calculada por balance de materia. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, usando 25 mL de agua de mar como control.

Modelo cinético de disolución

La figura 1 muestra los datos experimentales típicos de la cinética de disolución. Puede observarse que la disolución de las microcápsulas es un proceso complicado, consistiendo al parecer, de una secuencia de fracturas de las capas de unión lo cual genera el total o el parcial lavado de nutrimentos. La forma de la curva de disolución de la figura 1 demuestra que la disolución no ocurre en un sólo estado; de hecho, aunque la curva se va incrementando monótonicamente, se observan algunos puntos

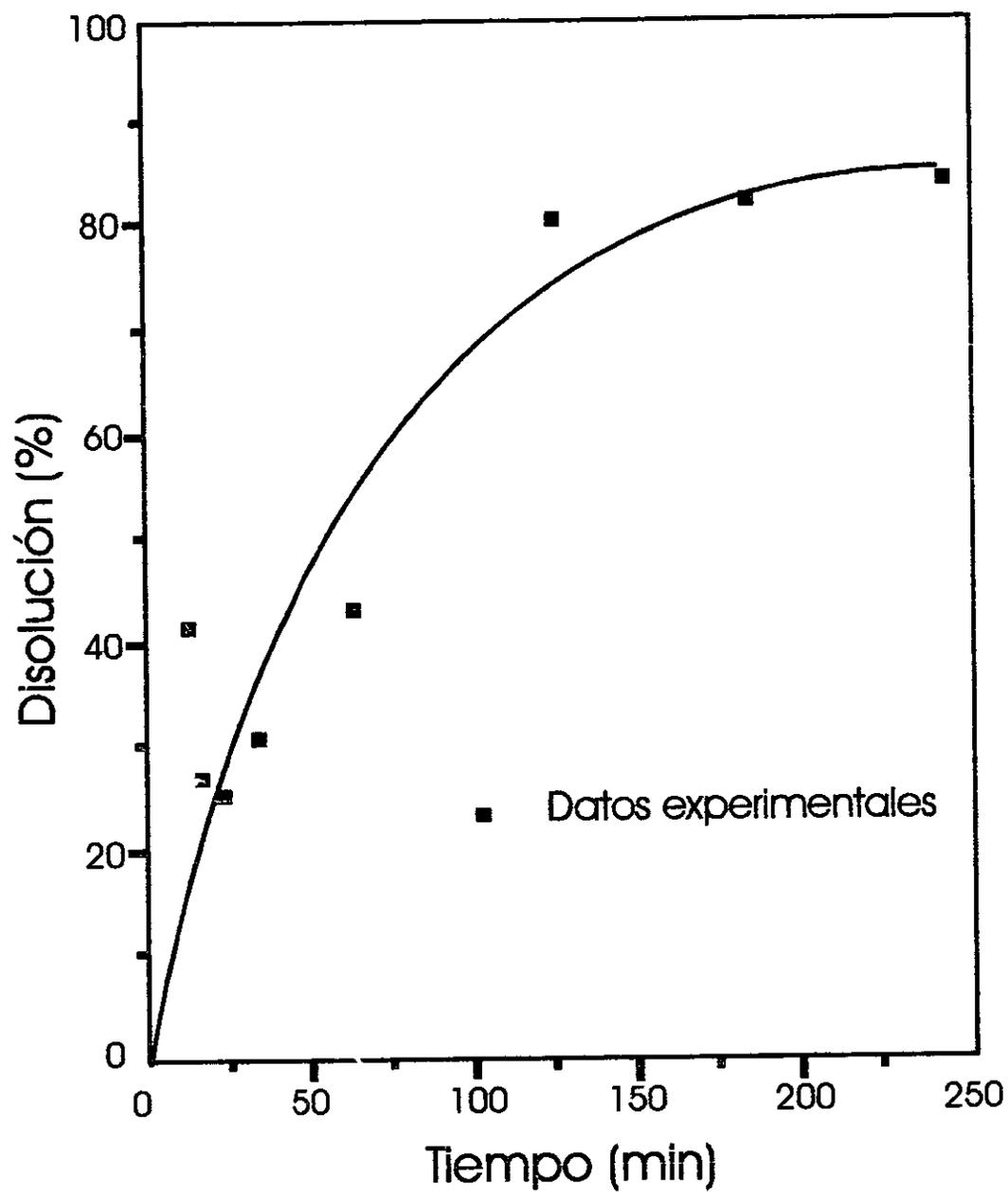


Figura 1. Curva típica de la cinética de disolución de las dietas microencapsuladas

de inflexión. Esto podría relacionarse con la estructura de la matriz de las microcápsulas.

En una primera aproximación, sin considerar la complejidad del proceso de disolución, se utilizó un modelo empírico que refleja las principales características del procedimiento. Las curvas de disolución mostraron el comportamiento siguiente: a) disolución inicial tasa cero, b) Incremento monotónico y c) Valor de equilibrio. Estas características sugirieron un modelo cinético de primer orden (Wagner, 1969):

$$\frac{dC}{dt} = (C_s - C)/\tau_d, \quad C(t = 0) = 0 \quad (2)$$

Donde C es la concentración del soluto al tiempo t , C_s es la concentración de equilibrio del soluto a la temperatura experimental y τ_d es la constante de tiempo de disolución. La constante cinética de primer orden $K_d = 1/\tau_d$. Para ajustar los datos experimentales de disolución, se utilizó la forma integral del modelo:

$$C(t) = C_s \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau_d}} \right] \quad (3)$$

Los parámetros de ajuste son C_s y τ_d . Es claro que la ecuación anterior es de tipo no lineal, así que se utilizó un método de estimación de parámetros por mínimos cuadrados, para ecuaciones no lineales (Press y cols., 1986). Para iniciar el procedimiento de estimación no lineal, los valores para C_s y τ_d fueron tomados de las curvas de los datos experimentales. Entonces, utilizando estos estimados preliminares, el procedimiento de estimación no lineal comenzó y fue iterativo hasta obtener el mínimo cuadrado del error. Las curvas obtenidas se presentan en el apéndice 3.

Flotabilidad

Dos gramos de microcápsulas de cada tratamiento se colocaron en la superficie de 10 mL de agua de mar contenida en un tubo de ensayo. Inmediatamente después, el tubo se introdujo en un espectrofotómetro Bausch and Lomb Spectronic 20, a 395 nm. Se tomaron lecturas del porcentaje de transmitancia, cada minuto, hasta tener una transmitancia menor de 10 por ciento.

Modelo cinético de flotabilidad

La figura 2 muestra una curva típica de los datos experimentales de cinética de flotabilidad. Debido a la absorción de agua, las microcápsulas no pueden permanecer suspendidas durante largo tiempo, más aún, se pueden colapsar y sedimentar: desdeluego que la rápida sedimentación, tiene un efecto adverso para la disponibilidad de nutrimentos es para el crecimiento larvario.

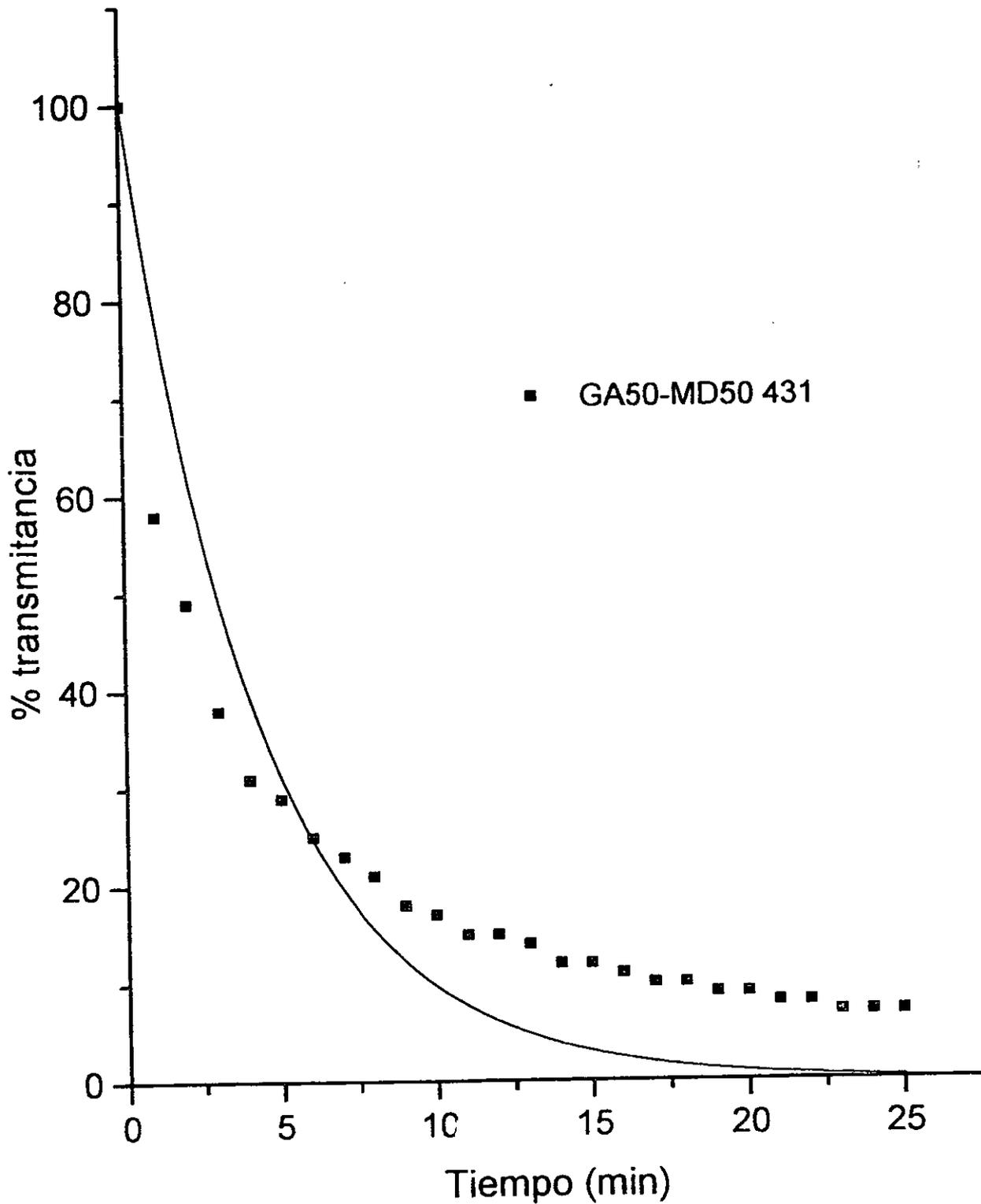


Figura 2. Curva típica de la cinética de flotabilidad de las dietas microencapsuladas

El proceso de sedimentación parece ser más simple que el de disolución. De hecho, la flotabilidad (medida como porcentaje de transmitancia) comienza con un 100% y decrece monótonicamente a cero en períodos largos. El modelo de decaimiento cinético de primer orden propuesto es el siguiente:

$$\frac{df}{dt} = -\frac{f}{\tau_f}, \quad f(t=0) = 100\% \quad (4)$$

f es la flotabilidad y τ_f es la constante de tiempo de flotación. El parámetro τ_f puede ser visto como el tiempo medio en que una microcápsula se encuentra en el seno del líquido antes de sedimentarse en el fondo. La versión integral de la ecuación anterior es:

$$f(t) = 100e^{-t/\tau_f} \quad (5)$$

Esta ecuación fue utilizada para ajustar los datos de flotabilidad experimental siguiendo el mismo procedimiento que en el caso de la cinética de disolución. El parámetro de ajuste fue la constante de tiempo de flotabilidad τ_f .

Capacidad encapsulante de aceites

Se determinó por medio de la cuantificación del contenido de aceite superficial, siguiendo la metodología propuesta por Chang y colaboradores (1989) con modificaciones. Se pesaron 5 g de muestra los cuales fueron colocados en un dedal de asbesto. En un vaso se colocaron 20 mL de hexano como solvente. Se utilizó un aparato Golfish para poner las muestras en reflujo durante 4 horas. Posteriormente, se evaporó el solvente a 30°C y, finalmente se determinó el peso del aceite.

Evaluación de las características de las microcápsulas como barrera a la oxidación

Para evaluar el efecto protector contra la oxidación, se decidió encapsular aceite de hígado de bacalao y de girasol, mezclados en la proporción que contiene la formulación de la dieta (cuadro 1). Se utilizaron las mismas condiciones descritas para la formación de las microcápsulas anteriormente, con la única diferencia de que sólo se encapsuló la mezcla de aceites emulsificada en las dispersiones de los biopolímeros mezclados de acuerdo al diseño experimental (cuadro 2).

Para determinar la estabilidad termo-oxidativa del aceite contenido en las microcápsulas se utilizó una técnica termoanalítica, la calorimetría diferencial de barrido en régimen dinámico, utilizando un calorímetro Dupont 910 (Litwinienko y col, 1995). Se pesaron de 1 a 2 mg de muestra y se colocaron en un crisol de aluminio hermético, al cual se le hizo una perforación superior central, estandarizada. El intervalo de calentamiento fue de 150 a 400°C, las velocidades de calentamiento fueron de 2.5, 5.0, 7.5 y 10°C min⁻¹. El flujo de aire fue de 25 mL min⁻¹.

Se obtuvo la temperatura máxima de la exoterma de oxidación de cada muestra a las cuatro velocidades de calentamiento estudiadas y se calcularon los parámetros de la ecuación de Arrhenius, siguiendo el procedimiento propuesto por la ASTM (ANSI/ASTM,1984).

$$k = Ze^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (6)$$

donde Z es el factor pre-exponencial, E_a es la energía de activación, k es la constante de velocidad de reacción, R la constante de los gases ideales y T la temperatura en Kelvin.

En el método ANSI/ASTM (1984) la temperatura de la muestra se incrementa a una tasa lineal (β). Los valores registrados de temperaturas de flujo máximo de calor T_{MP} para diferentes valores de β pueden ser descritos como:

$$\log \beta = aT_{MP}^{-1} + b \quad (7)$$

donde a y b son coeficientes empíricos.

Los valores aproximados de la energía y el factor pre-exponencial de Arrhenius se calcularon como se muestra a continuación:

$$E' = -2.19R \frac{d \log \beta}{dT_{MP}^{-1}} \quad (8)$$

$$Z = \frac{\beta E e^{E/RT}}{RT_{MP}^2} \quad (9)$$

Donde β y T_{MP} son tomados a partir de la media del intervalo.

Adsorción de agua

La evaluación de la estabilidad en almacenamiento de los productos microencapsulados se realizó determinando la cinética de adsorción de agua, siguiendo la metodología propuesta por Beristain (1996). Para tal efecto se utilizó el dispositivo de almacenamiento a humedad controlada que se presenta en la figura 3. Se pesaron aproximadamente 0.3 g de muestra y se colocaron en los portamuestras. Las muestras así dispuestas fueron expuestas durante 5 min a radiación ultravioleta por medio de una lámpara manual, para eliminar la carga microbiana y evitar el crecimiento de bacterias y hongos que pudieran interferir con los resultados. Las muestras se colocaron dentro de cada desecador. Todos los desecadores se introdujeron en una incubadora para mantener una temperatura constante. Diariamente se pesaron y dicho peso fue registrado hasta que no hubo variación.

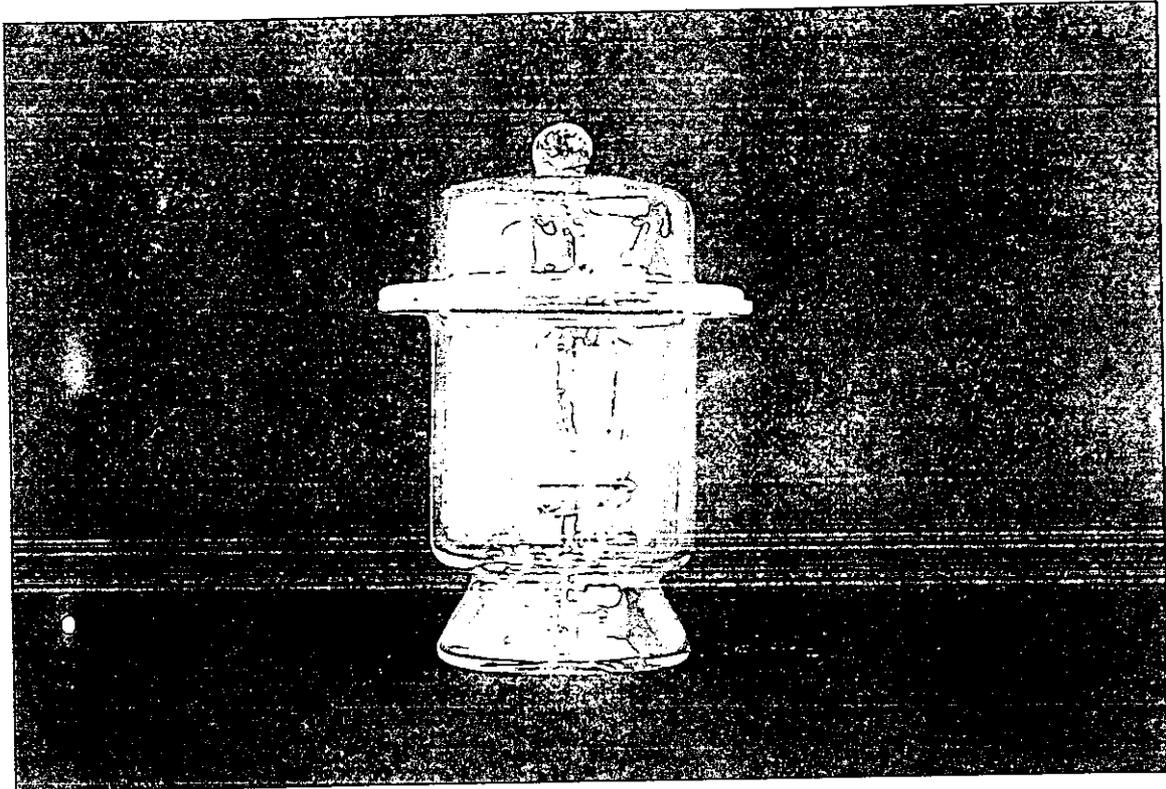


Figura 3. Dispositivos para la determinación de adsorción de humedad en los microcapsulados

Análisis de la transferencia de masa a través de la ecuación de difusión.

Para la determinación de la disolución total de las microcápsulas, se parte de la consideración de un problema de difusión pseudo-binario, con difusión unidireccional de masa y se toma como despreciable el efecto de curvatura, debido a que el espesor de la capa que ofrece la resistencia a la transferencia de masa, es muy pequeña con respecto del diámetro de la microcápsula. La difusión estaría representada por la ecuación siguiente, expresada en términos de la fracción en peso:

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2} \quad (10)$$

Se postula que el coeficiente de difusión es una función del peso molecular, debido a que las cadenas poliméricas presentan dependencia con éste (Ju y col., 1995a, b):

$$D = aM^b \quad (11)$$

Como segundo postulado, se propone que el peso molecular a su vez cambia en función del tiempo ya que el cambio conformacional de los polímeros debido a la hidratación, supone cierto grado de interacción entre las cadenas poliméricas lo que tiene como consecuencia que la variación en el coeficiente de difusión está asociado fuertemente al peso molecular:

$$M = f(t) \quad (12)$$

Se supone un comportamiento de decaimiento logarítmico expresado por:

$$M = (M_0 - M_\infty) e^{-\beta t} + M_\infty \quad (13)$$

Entonces,

$$D = a \{ (M_0 - M_\infty) e^{-\beta t} + M_\infty \}^b \quad (14)$$

Sustituyendo (14) en la ecuación de difusión se tiene el modelo siguiente

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = a \{ (M_0 - M_\infty) e^{-\beta t} + M_\infty \}^b \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2} \quad (15)$$

Se establecen condiciones inicial y de frontera: la condición inicial, para cualquier posición ($y \geq 0$), corresponde a la fracción en peso al inicio del proceso

$$c_I \quad t = 0, \quad w_i = w_{i0}$$

La primera condición de frontera, para cualquier tiempo ($t \geq 0$), supone que la superficie de la microcápsula la fracción peso es igual a la fracción peso en el equilibrio. después de que se ha iniciado el proceso.

$$c_{F1} \quad y = R, \quad w_i = w_i^{eq}$$

La segunda condición de frontera supone que en el centro de la microcápsula, para cualquier tiempo, los cambios en la fracción en peso son constantes

$$c_{F2} \quad y = 0, \quad \frac{\partial w_i}{\partial y} = 0$$

Se definen tres variables adimensionales. La primera se refiere a la relación de la fracción peso, acotada entre 0 y 1

$$\theta = \frac{w_i - w_i^{eq}}{w_{i0} - w_i^{eq}} \quad (16)$$

La siguiente, está relacionada con el tiempo, referido al valor de la difusividad al inicio de la difusión

$$\tau = \frac{tD_0}{R^2} = \frac{t}{R^2} aM_0^b \quad (17)$$

La tercera variable adimensional planteada es para la posición relativa al radio de la cápsula

$$\xi = \frac{y}{R} \quad (18)$$

Escribiendo la ecuación en términos de las variables adimensionales y aplicando las condiciones de frontera, se tiene el modelo de difusión adimensional:

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = \left\{ \left(1 - \frac{M_\infty}{M_0} \right) e^{-\beta \tau R^2 / aM_0^b} + \frac{M_\infty}{M_0} \right\}^b \frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2} \quad (19)$$

cuya solución aproximada al primer término de la serie es:

$$\theta = \frac{4}{\pi} \cos\left(\frac{\pi}{2}\xi\right) e^{-(\pi/2)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau} \quad (20)$$

Donde:

$$f(\tau) = \left\{ \left(1 - \frac{M_\infty}{M_0} \right) e^{-\beta R^2 \tau / aM_0^b} + \frac{M_\infty}{M_0} \right\}^b \quad (21)$$

Como el interés se centra en la determinación de la cantidad de material disuelto, entonces se requiere del cálculo del flux de masa para una esfera (microcápsula) que posee un área interfacial promedio calculada a partir de un diámetro de partícula promedio, a través de la expresión siguiente

$$J_{d, y=R} = D \left. \frac{\partial w_d}{\partial y} \right|_{y=R} \quad (22)$$

donde

$$\frac{\partial w_d}{\partial y} = \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \xi} \quad (23)$$

por lo que se puede escribir

$$J_d = -D \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \xi} \Big|_{\xi=1} \quad (24)$$

Resolviendo

$$J_d = 2D \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R} e^{-(\pi/2)^2} \int_0^\pi f(\tau) d\tau \quad (25)$$

Para calcular la disolución por partícula como una función del tiempo, se tiene la expresión siguiente:

$$\mathfrak{D}(t) = \int_0^t \int_0^A J_d dA_p dt \quad (26)$$

$$\mathfrak{D}(t) = A_p \int_0^t J_d dt \quad (27)$$

Resolviendo la ecuación y expresándola en función de τ (tiempo adimensional) se tiene que la disolución por partícula es

$$\mathfrak{D}(t) = 8\pi R^3 (w_{d0} - w_d^{eq}) \int \frac{\left\{ \left[(M_0 - M_\infty) e^{-\beta R^2 \tau / a M_0^b} + \frac{M_\infty}{M_0} \right]^b e^{-(\pi/2)^2} \int_0^\tau f(\tau) d\tau \right\}}{a M_0^b} d\tau \quad (28)$$

Para cuantificar la disolución total para un tiempo deseado se puede escribir

$$\mathfrak{DT} = n_p V \mathfrak{D}(t) \quad (29)$$

Donde n_p es el numero promedio de partículas en un volumen V de fase líquida.

El desarrollo matemático completo se encuentra en el apéndice 5.

Aproximación del peso molecular promedio de la goma de mezquite

Uno de los métodos utilizados para la determinación del peso molecular promedio es el viscométrico. La magnitud característica de este método es la viscosidad intrínseca o índice de Staudinger, la cual se obtiene por extrapolación a concentración igual a cero de la viscosidad reducida:

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{red} = \lim \left[\frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 c} \right] \quad (30)$$

Donde η_0 es la viscosidad del solvente, η es la viscosidad de la solución y c es la concentración.

La relación entre la viscosidad intrínseca y el peso molecular está dada por la ecuación de Kuhn-Mark-Houwink:

$$[\eta] = KM^a \quad (31)$$

Donde K y a son constantes para cada polímero y cada disolvente, para una temperatura dada. El valor de a depende de la forma macromolecular (Angulo, 1998).

Vernon-Carter (1981) encontró que la viscosidad reducida se incrementaba curvilíneamente a medida que la concentración de la goma de mezquite disminuía, pero se observaba un máximo a ciertas concentraciones de equilibrio cuando se utilizaba NaCl (Figura 4). A una concentración de NaCl de 69.98×10^{-4} g.eq./L, la forma de la gráfica de la viscosidad reducida contra la concentración, se parecía más a las obtenidas para soluciones diluidas de polímeros neutros, donde la dependencia de la concentración de la viscosidad reducida en la región de alta dilución, decreció linealmente con la disminución de la concentración de la goma.

Para el cálculo del peso molecular promedio se utilizó la viscosidad intrínseca extrapolada a cero, tomada de la última curva descrita de la Figura 4 ($[\eta] = 34$ mL/g) y se consideraron las constantes informadas para la goma arábiga: $a = 0.54$ y $K = 0.013$ (Islam y col., 1997). Estos valores se sustituyeron en la ecuación de Kuhn-Mark-Houwink, resultando un peso molecular promedio de 2,120,864 g/mol.

Bioensayo de sustitución de nauplios de *Artemia* por alimento microencapsulado

El diseño experimental utilizado para este ensayo se presenta en el cuadro 4, donde A y B corresponden al tipo de microcápsulas utilizadas. Las larvas de *Litopenaeus vannamei* fueron obtenidas a partir de desoves logrados en el Laboratorio de Ecofisiología de la UNAM, en Ciudad del Carmen, Campeche.

Cuadro 4. Diseño experimental para el bioensayo

Tratamiento	Descripción
Control	Microalgas y <i>Artemia</i> (diatomeas, flagelados y nauplios de <i>Artemia</i>)
Dieta A con algas	Microalgas y microcápsulas A
Dieta B con algas	Microalgas y microcápsulas B
Dieta A sin algas	Microcápsulas A
Dieta B sin algas	Microcápsulas B

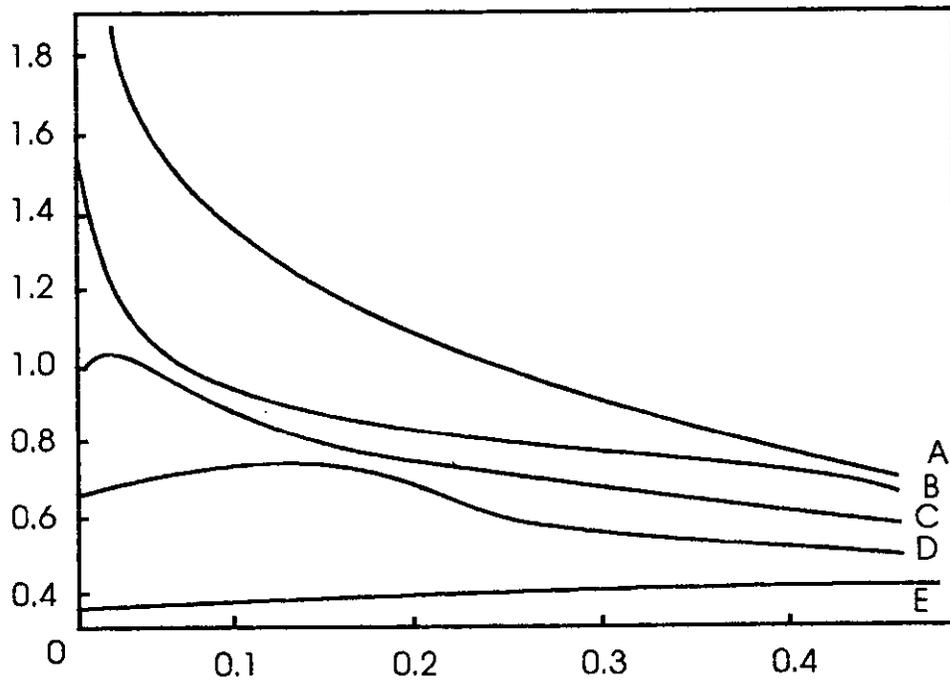


Figura 4. Curvas de viscosidad reducida-concentración para soluciones diluidas de goma de mezquite: (A) en agua destilada; (B) en $\text{NaCl } 5.81 \times 10^{-4} \text{ g.eq}$; (C) en $\text{NaCl } 11.63 \times 10^{-4} \text{ g.eq}$; (D) en $\text{NaCl } 17.44 \times 10^{-4} \text{ g.eq}$; (E) en $\text{NaCl } 69.98 \times 10^{-4} \text{ g.eq}$. (Vernon-Carter y col., 1999)

El esquema de alimentación se presenta en el cuadro 5. Las concentraciones de microalgas y *Artemia* fueron mantenidas y ajustadas dos veces al día.

Cuadro 5. Esquema de alimentación con alimento vivo usado en el bioensayo

Estadio de crecimiento	<i>C.cerastosporum</i> (cel/mL)	<i>T.chuii</i> (cel/mL)	<i>Artemia</i> (nauplios/mL)
PIII	85,000	25,000	0.2
MI	70,000	25,000	1.0
MII	60,000	20,000	1.5
MIII	50,000	20,000	2.0
PL1	50,000	15,000	3.0

Las dietas microencapsuladas se suministraron cada 6 horas y las raciones diarias se dan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Raciones de alimento utilizadas en el bioensayo

Estadio de crecimiento	miligramos /Litro/día
PIII	8
MI	16
MII	16
MIII	16
PL1	16

Los indicadores evaluados fueron la tasa de crecimiento expresada en peso y longitud de mysis (MI) a postlarva 1 (PL1), Índice de calidad a través de un estrés salino (IC) en PL2 y los índices de rendimiento (IR) (García y col, 1998).

Para el análisis de los resultados del bioensayo se utilizó un análisis de varianza de una vía para determinar las diferencias significativas entre tratamientos y como prueba a posteriori se utilizó la de Duncan para la ponderación de las diferencias (Montgomery, 1991).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media volumétrica $D_{4,3}$ del tamaño de las microcápsulas fue afectada por el valor de pH, la relación agente encapsulante-dieta y por el tipo de mezcla de los biopolímeros. Las ecuaciones predictivas (cuadro 7) dieron lugar a las superficies de respuesta que se presentan en la figura 5, indicando que las interacciones binarias entre los biopolímeros fueron las que presentaron efecto significativo en el tamaño de las microcápsulas para los cuatro experimentos. Las gráficas correspondientes a la distribución de tamaño de partícula de cada tratamiento se presentan en el apéndice 6.

Cuadro 7. Ecuaciones predictivas para determinar la media volumétrica del tamaño de partícula de los microencapsulados

Modelo	Experimento
$y = 21.43GA + 24.90GM + 14.40MD - 16.66GAGM^* + 16.40GMMD + 37.10GAMD^*$	E-421
$y = 24.29GA + 27.16GM + 25.53MD - 50.99GAGM^* - 17.47GMMD - 4.46GAMD^*$	E-821
$y = 25.62GA + 25.71GM + 24.46MD - 8.47GAGM + 37.18GMMD^* + 23.23GAMD^*$	E-431
$y = 26.90GA + 29.45GM + 14.32MD - 5.17GAGM + 34.72GMMD^* + 39.14MD^*$	E-831

Estos hallazgos pueden atribuirse a una combinación de factores, los cuales incluyen el contenido proteínico y los cambios conformacionales de los biopolímeros involucrados.

La MD es un polímero prácticamente lineal, neutro, con un peso molecular promedio de alrededor de 1800 g/mol (Kenyon y Anderson, 1988). La GA y la GM son heteropolímeros altamente ramificados con grupos terminales ionizables (Goycoolea y col, 1997; Vernon-Carter y col., 1998). La GA tiene una masa molecular que varía entre 47,000 a 3,000,000 g/mol (Anderson, 1977) y la GM un peso molecular promedio estimado entre 87,000 y 880,000 g/mol (Anderson y Farquhar, 1982) aunque se ha informado que puede alcanzar valores de hasta 2,120,864 g/mol (Vernon-Carter y col, 1998).

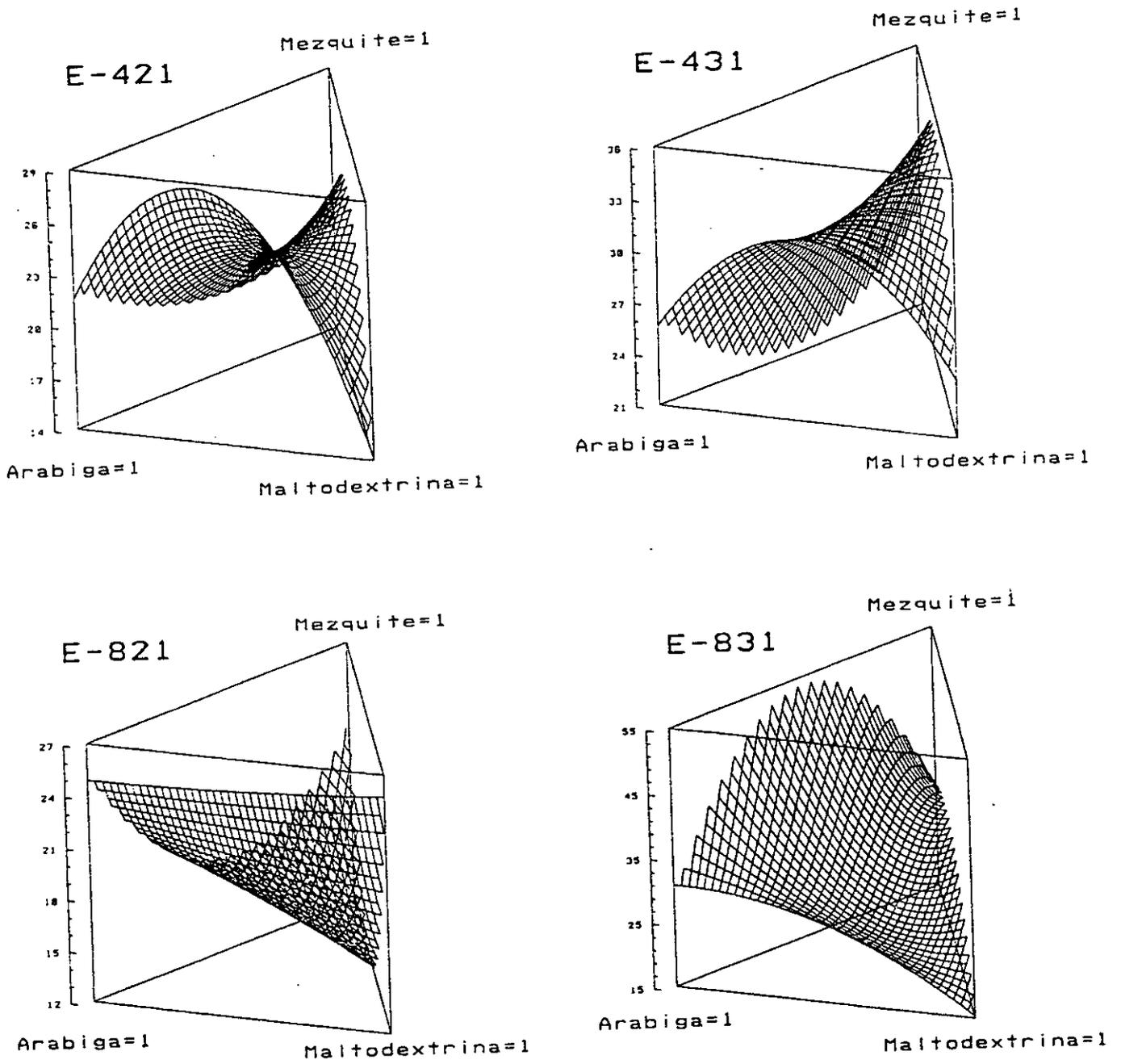


Figura 5. Superficies de respuesta para la distribución de tamaño de partícula

Adicionalmente, tanto la GA como la GM contienen una pequeña cantidad de material proteináceo, covalentemente unido al componente polisacárido (Anderson y Weiping, 1989; Fenyo y Vandeveld, 1990; Islam y col., 1997), la cual es mayor en la GM que en la GA (Goycoolea y col., 1997; Vernon-Carter y col., 1998). Por otra parte, la GA y la GM cambian su conformación de un estado enrollado a uno extendido y nuevamente a uno enroscado a medida que el valor de pH del medio varía de ácido a neutral y a básico (Glicksman, 1983; Vernon-Carter y col., 1999), mientras que la MD, como la mayoría de los derivados del almidón, tienden a incrementar su capacidad de hidratación a medida que el pH se incrementa de 4.0 a 8.0 (Smith, 1983).

La ecuación predictiva ($R^2=0.8016$) para el experimento E-421 indica que la interacción GA50-MD50 contribuyó positiva y significativamente ($p<0.05$) al tamaño de las microcápsulas, mientras que la interacción GA50-GM50 contribuyó negativa y significativamente ($p<0.05$) al tamaño. Este fenómeno puede explicarse de la manera siguiente: Sin tomar en cuenta la diferencia en peso molecular entre la GA y la GM, puede considerarse que ambas moléculas se difunden hacia la interfase dieta-fase acuosa, a tasas similares formando una película interfacial mezclada. Mientras que las moléculas de la MD que van llegando a la interfase se esparcen con facilidad debido a su estructura lineal y al débil anclamiento en la interfase por su carencia de grupos hidrofóbicos. Las moléculas de GA y de GM se adsorben de manera más compacta y más fuerte por su fracción proteínica.

A medida que la monocapa de la dieta se satura por la adsorción de ambos biopolímeros, las nuevas moléculas que se difunden hacia la interfase tienden a enredarse entre ellas y con las moléculas adsorbidas en la monocapa, tendiendo a formar multicapas. No obstante, estas multicapas son de naturaleza discontinua debido a la estructura y características de las moléculas de GA y de MD adsorbidas en la monocapa.

Mientras que las moléculas de GA interactúan fuertemente entre ellas formando una multicapa entretrejida, su interacción con las moléculas de MD y las interacciones entre las moléculas de MD no son fuertes, formando zonas de multicapas donde podría hablarse de una "pérdida de estructura". El efecto neto es la formación de una multicapa gruesa. En contraste, la interacción GA50-GM50 tiende a formar un tamaño de microcápsula de dimensiones pequeñas comparada con la interacción GA50-MD50.

Vernon-Carter y Sherman (1981a) informaron que la difusión de las moléculas de mezquite a la interfase de parafina fue una función del valor de pH. A valores de pH de 4.36 (valor de pH natural de las soluciones de la goma de mezquite) y a pH de 9.0, las moléculas de la goma de mezquite presentaron una configuración

más compacta en solución acuosa y se difundieron relativamente rápido hacia la interfase aceite-agua, disminuyendo la tensión interfacial (γ). Se observó una pequeña reducción subsecuente, con el tiempo, en la γ debido a la distribución y reconformación molecular. A valores de pH de 5.0 a 8.0, las moléculas tienen una configuración expandida, con un máximo a pH de 7.0 y por ello, la difusión hacia la interfase aceite-agua fue preferentemente más lenta. Bajo esas condiciones, el abastecimiento por difusión fue más lento y la reducción en la γ fue controlada por la reconformación molecular y por tanto, implicó un mayor tiempo.

Con esto en mente puede pensarse que, a valores de pH de 4.0, tanto la GA como la GM están enrolladas y, teniendo una estructura muy similar, se difunden hacia la interfase aceite-agua, a velocidades similares. Dado que ambas gomas tienen grupos hidrofóbicos, sus moléculas se encuentran fuertemente vinculadas a la interfase. Además, como ambas moléculas están enrolladas y tienen forma esférica, existe una densidad alta de moléculas en la interfase, y como las interacciones polímero-polímero se ven favorecidas por sobre las interacciones polímero-solvente, se forma una multicapa cerrada uniforme, alrededor de la dieta, controlada preferentemente por la difusión mas que por un mecanismo de reconformación.

A medida que la concentración se incrementa de 2:1 a 3:1 con respecto a la dieta (E-431), las interacciones binarias GM50-MD50 y GA50-MD50 se correlacionaron positiva y significativamente al tamaño de las microcápsulas ($R^2=0.8522$). Los mecanismos de difusión son muy similares a los descritos para la interacción GA50-MD50 del experimento E-421. Sin embargo, al aumentar la concentración de goma se incrementa la tasa de difusión hacia la interfase, particularmente por las formas esféricas de las moléculas de GA y GM. Entonces, más moléculas de GA y de GM se adsorben en la monocapa que moléculas de MD. Por otra parte, las multicapas GA-MD son más pequeñas en el experimento E-431 que en el E-421 ya que se encuentran entrelazadas en estructuras más cerradas.

La ecuación predictiva ($R^2=0.7247$) para el experimento E-821 indica que la interacción binaria GA50-GM50 está negativa y significativamente correlacionada al tamaño de las microcápsulas. A valores de pH de 8.0, tanto la GA como la GM, tienen una configuración más extendida que a pH 4.0. Además, las tasas de difusión hacia la interfase son más lentas que a pH 4.0, pero el mecanismo que controla la adsorción interfacial es la reconformación de ambas moléculas en la interfase (Vernon-Carter y Sherman, 1981a). Esta reconformación causa que se incremente la adsorción en la interfase y el entramado molecular (Islam y col., 1997). La estructura de esta película es más abierta y contiene grandes cantidades de agua adsorbida por la matriz biopolimérica generando una estructura tipo gel alrededor de las partículas de la dieta. Beristain y Vernon-Carter (1995) informaron que una mezcla de GA-GM en relación de 60:40 tuvo la habilidad de encapsular una cantidad mayor de aceite esencial de naranja que las gomas solas por sí mismas. De

manera similar, Vernon-Carter y col. (1996) informaron que las mezclas de GA-GM tuvieron un efecto sinergista contra la coalescencia en emulsiones de oleoresina de cempasúchil en agua.

Estos resultados indican que al menos a valores de pH de 8.0 y en las interfases, las moléculas de ambas gomas se interpenetran y se enlazan de manera importante. Estas observaciones contrastan marcadamente con lo informado por Goycoolea y cols., (1995) quienes establecen que las moléculas de GM y de GA en soluciones concentradas inhiben la interpenetración. No obstante, estos autores no consideran el efecto del pH en la conformación molecular de la GM y la GA.

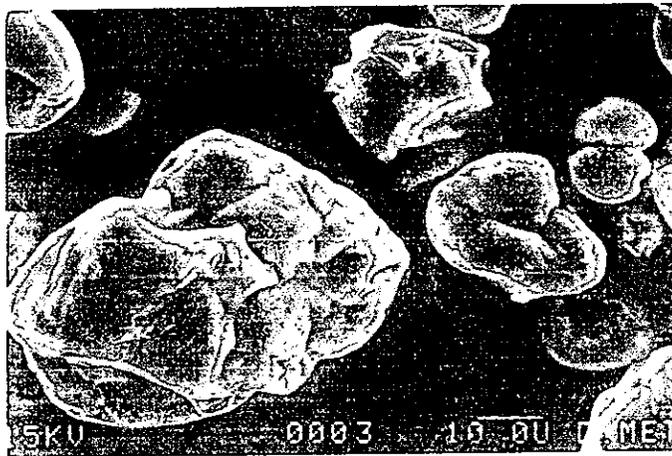
Ray y colaboradores, (1995) atribuyeron la excelente capacidad emulsificante de la GA al hecho de que se encuentra provista de una combinación particular de muchas especies moleculares que difieren en tamaño y composición entre sí.

A medida que la relación agente encapsulante-dieta se incrementa (experimento E-831), la ecuación predictiva ($R^2=0.9270$) indica que las interacciones binarias GM50-MD50 y GA50-MD50 están positiva y significativamente correlacionadas al tamaño de las microcápsulas ($p<0.0002$; $p<0.0004$ respectivamente). Los mecanismos de difusión, adsorción e interacción en la interfase de la dieta son muy similares a lo explicado para el experimento E-431.

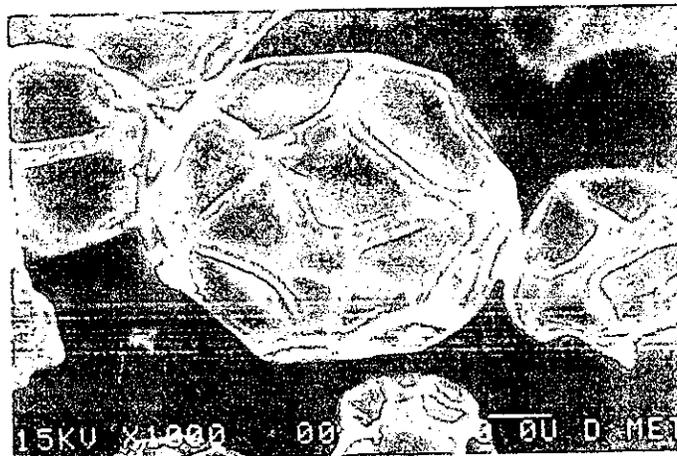
Vernon-Carter y Sherman (1981a) encontraron que, para soluciones de 16.67% (p/v) de goma de mezquite a diferentes valores de pH, el tiempo de relajación (t) para alcanzar el estado de equilibrio en la tensión interfacial (γ) con aceite fue similar en todos los casos. Esto indica que la adsorción en la interfase es independiente de la concentración de goma de mezquite y que la capa adsorbida en la interfase se relaciona cercanamente con la configuración molecular de la goma en soluciones diluidas. En concentraciones elevadas, el proceso de adsorción está controlado por la reconformación de las moléculas adsorbidas en la interfase. A valores de pH 8.0, ambas gomas, la GA y la GM están más expandidas que a los de pH 4.0 y ocurren las interacciones polímero-solvente y polímero-polímero. El efecto neto es tener una capa adsorbida expandida.

Microestructura de las microcápsulas

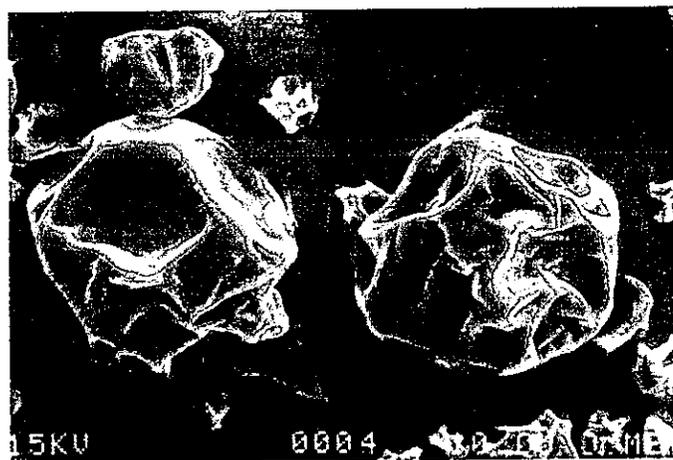
Las micrografías con el MEB mostraron que las mezclas del material biopolimérico tuvieron influencia sobre la topografía externa o morfología de las microcápsulas. Estas diferencias son muy pronunciadas sobre todo cuando se comparan las microcápsulas elaboradas con MD100, GM100 o GA100 (Figuras 6 a, b, c).



(a)



(b)



(c)

Figura 6. Micrografías mostrando la topografía externa de (a) tratamiento MD100, experimento E-421; (b) tratamiento GM100, experimento E-431 y (c) tratamiento GA100, experimento E-421

Las microcápsulas donde se incorporó a la MD en altas proporciones exhibieron malas características tales como partículas de tamaño heterogéneo, formas no esféricas y presencias de agujeros y grietas (Figura 7). Estas deficiencias fueron más marcadas para los experimentos 2:1 con relación a los de 3:1, independientemente del pH.

Todas las microcápsulas se caracterizaron por presentar superficies dentadas, las cuales tienden a ser menos pronunciadas a medida que la proporción de GM o de GA se incrementaba en las mezclas del material que conforma la pared (Figura 8). Este fenómeno se ha atribuido a los mecanismos de secado y atomización involucrados en el secado por aspersión (Rosenberg y col., 1985; Rosenberg y Young, 1993) los cuales causan el encogimiento de las partículas durante el secado y el enfriamiento y se asocian a los materiales de pared que contienen altas proporciones de carbohidratos (Sheu y Rosenberg, 1995).

La presencia de estas protuberancias dentadas tiene un efecto adverso en las propiedades de flujo de las microcápsulas, así que deben preferirse las condiciones de proceso que mimimicen o eliminen la formación de superficies de este tipo (Rosenberg y col, 1995). La disminución en la indentación por la presencia ya sea de GA o de GM indica la importancia de estas moléculas en las propiedades de secado y en las características reológicas de los sistemas que conforman la pared.

Recientemente, Romero-Tehuiztil y colaboradores, (1999) informaron que la cinética de secado de espumas de tamarindo dependió fuertemente, de las características y composición de los agentes espumantes empleados. En particular, cuando se usó la GM en combinación con la ovoalbúmina o con compuestos tensoactivos de bajo peso molecular, se forman películas complejas con estructura reticulada que varía en grado de tortuosidad que limitan la difusión de agua y de los compuestos volátiles hacia la superficie de evaporación. Más aún, se ha informado que las soluciones de 16.67% de GM forman películas altamente elásticas en la interfase de la parafina y el agua (Vernon-Carter y Sherman, 1981b). En este estudio, las concentraciones de biopolímeros utilizadas fueron 16.67% (p/p) y 18.75% (p/p), para las relaciones de material de pared-dieta de 2:1 y 3:1, respectivamente. Entonces, la difusión de agua se ve controlada por la capa de alta viscoelasticidad que se adsorbe alrededor del material de la dieta, disminuyendo además la formación de agujeros en la superficie de las microcápsulas. Dado que el secado por aspersión es un proceso muy rápido, la composición física de la gota queda fija y se refleja en la estructura de las partículas resultantes (Ré, 1998).

Las microcápsulas que formaron una morfología más homogénea fueron las elaboradas con GA100 (Figura 9a) o las de GM100 (Figura 9b); sin embargo, las microcápsulas de GA100 mostraron hoyos, principalmente las elaboradas a valores de pH de 4.0 (Figura 9a), para ambas relaciones de agente encapsulante-dieta.



Figura 7. Micrografía de microcápsulas GA17-GM17-MD66, experimento E-421

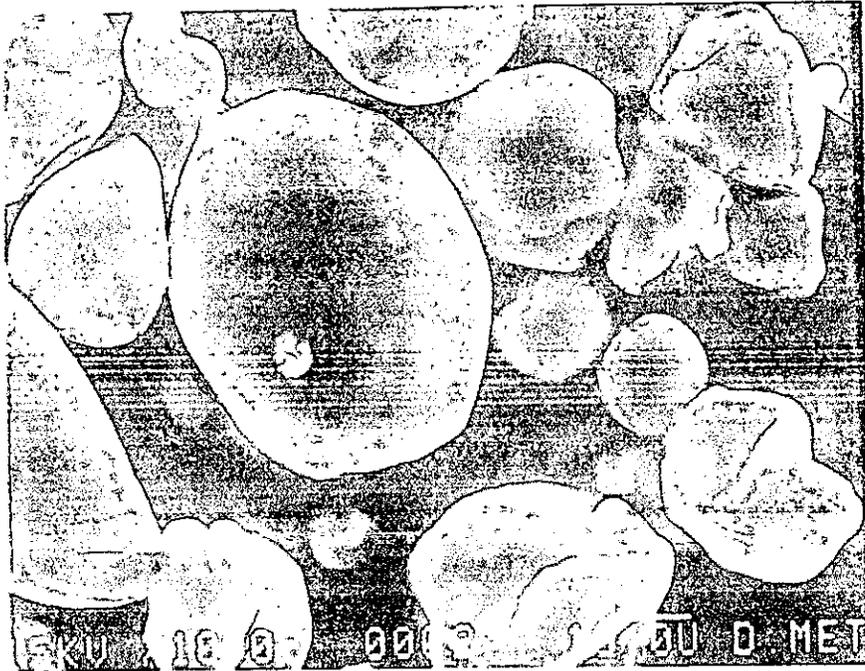
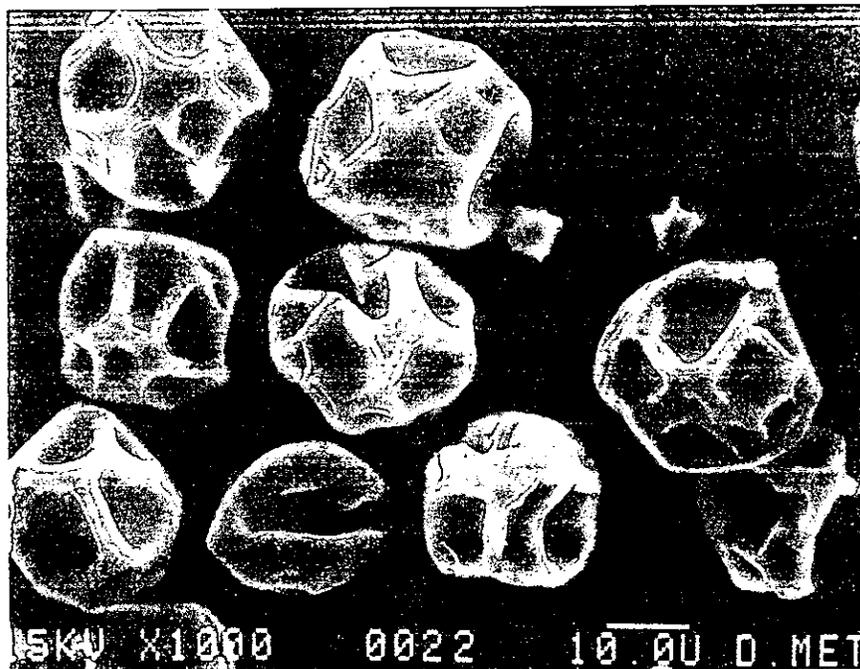


Figura 8. Micrografía de las microcápsulas del tratamiento GA50-GM50, experimento E-831



(a)



(b)

Figura 9. Micrografías de la topología de (a) tratamiento GA100, experimento E- 431 y (b) tratamiento GM100, experimento E-831

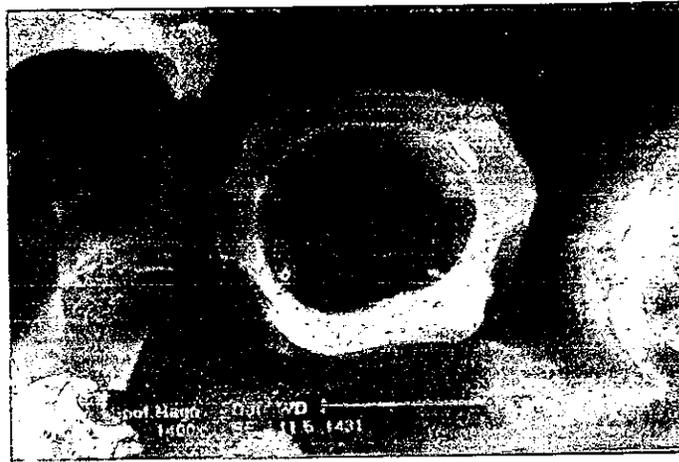
Con respecto al pH, la mayoría de las microcápsulas tendieron a mostrar menores defectos a valores de pH de 4.0 que a pH 8.0, con excepción del tratamiento GA100. Por otra parte, algunos tratamientos a pH de 8.0 y una relación de material de pared-dieta de 3:1, formaron microcápsulas muy homogéneas en forma y tamaño de partícula y estuvieron exentas de hoyos o fracturas. Las microcápsulas de GM100 (Figura 9b) no exhibieron los defectos de las microcápsulas de GA100 (Figura 9a). Kenyon y Anderson (1988) sugirieron que las moléculas con mayores masas tienden a formar paredes con mejores características que las moléculas con bajo peso molecular.

La superficie interna de todas las microcápsulas correspondió a lo que Ré (1998) denomina la arquitectura de microcápsulas donde el elemento a encapsular se distribuye uniformemente a través de, o es embebido en la matriz del material que forma la pared. El centro de todas las microcápsulas se caracterizó por un vacío que ocupaba la mayor parte de la microcápsula. La dieta se dispersó en el material de la pared de las microcápsulas en forma de protuberancias elongadas o laminares (Figura 10a). El hueco central tendió a ocupar un menor volumen en relación al volumen total de la microcápsula a medida que la relación agente encapsulante-dieta se incrementó (Figura 10b) y el valor del pH varió de 4.0 a 8.0 (Figura 10c).

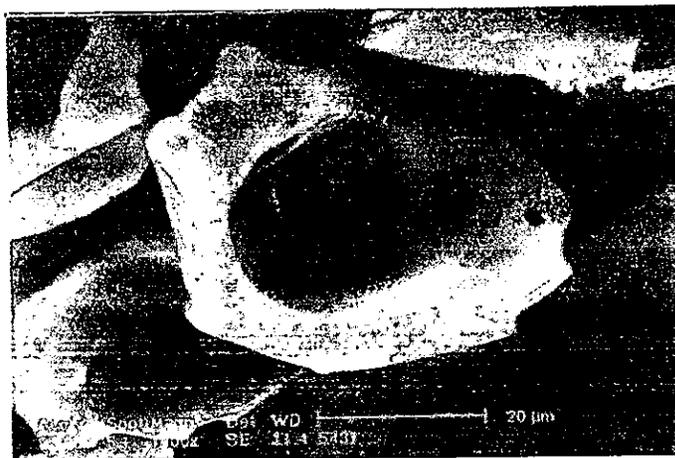
Las secciones de la pared de las microcápsulas mostraron que muchos tratamientos tuvieron especies de poros de diferentes tamaños y número por área superficial. Las microcápsulas obtenidas del experimento E-421 tuvieron un gran número de poros (Figura 11a), los cuales decrecieron en cantidad a medida que la relación material de pared-dieta se incrementó a 3:1 (Figura 11b). También las microcápsulas formadas en el E-821 tuvieron gran número de poros (Figura 12a), excepto el tratamiento con GM100. Otra vez se observó que a medida que la proporción de GA y GM en la pared se incrementaba, el tamaño y el número de poros disminuía (Figura 12b), resaltando los tratamientos de GM100 y de GM50-MD50 ausentes de poros.

Cinética de disolución

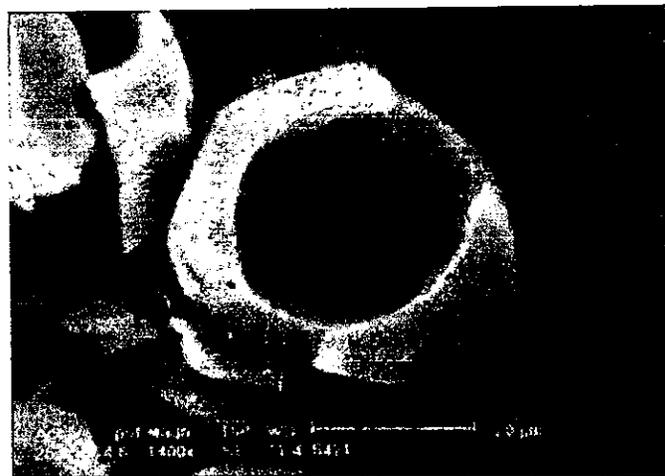
Las tasas de disolución de las microcápsulas elaboradas con los diferentes tratamientos de mezclas de biopolímeros alcanzaron una disolución de equilibrio del 80 al 90% a los 240 minutos en agua de mar. Dada la similaridad de los valores de disolución en equilibrio fue necesario adoptar otro parámetro como criterio de selección. Se determinó la constante de tiempo τ_d y se encontró que varió de 11.06 a 108.0 min, proveyendo por tanto, de un medio adecuado para diferenciar los tratamientos en términos de un tiempo de disolución característico (cuadro 8).



(a)

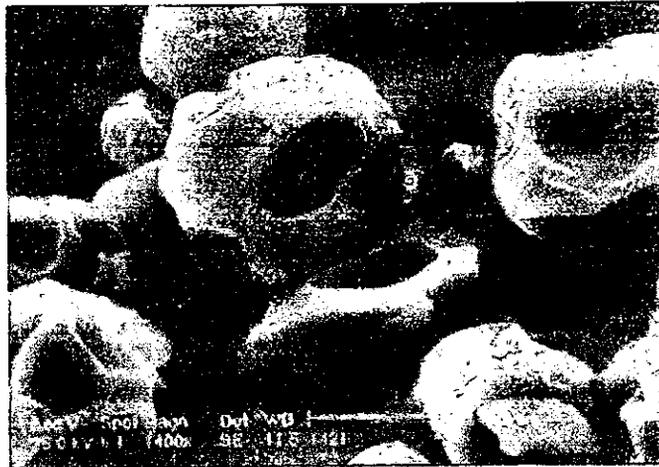


(b)



(c)

Figura10. Micrografías de la estructura interna de (a) tratamiento GA50-MD50, experimento E-421; (b) tratamiento GA50-MD50, experimento E-431 y (c) tratamiento GA100, experimento E-431

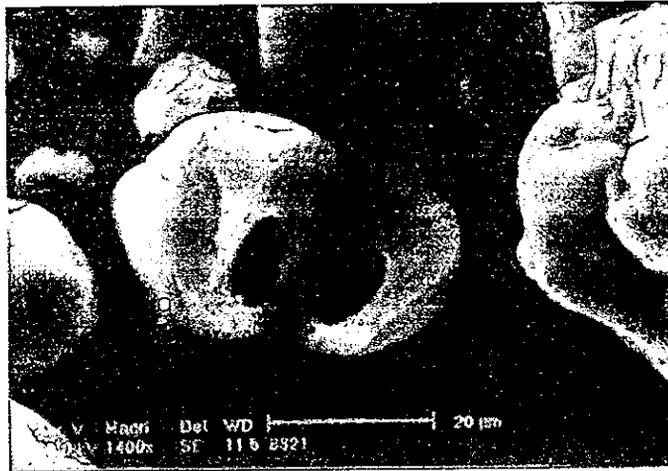


(a)

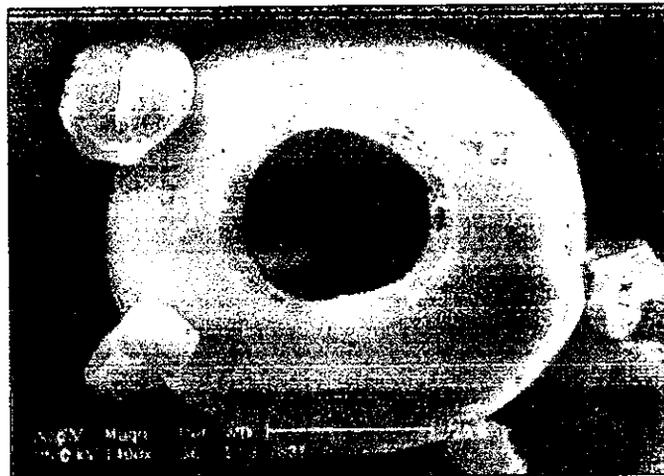


(b)

Figura 11. Micrografías de una sección de la pared (a) tratamiento GA100, experimento E-421 y (b) tratamiento GA100 del experimento E-431



(a)



(b)

Figura 12. Micrografías de microcápsulas seleccionadas de (a) tratamiento GA66-GM17-MD17, experimento E-821 y (b) tratamiento GA33-GM33-MD33, experimento E-831

Las prácticas comerciales de alimentación, normalmente se refieren a dosificar las dietas de 3 a 5 veces diariamente, con un recambio de agua de alrededor del 50% del volumen de agua del tanque por día, para asegurar la eliminación de los componentes alimenticios y las heces de las larvas (Kurmaly y cols., 1989; Amjad y Jones, 1992; Medina, 1998). Sin embargo, dichas prácticas de alimentación no consideran la naturaleza y la estabilidad de las dietas así como los requerimientos de frecuencia de alimentación de las larvas y más bien parecen relacionarse a la conveniencia del personal a cargo de la tarea de alimentación (Tacon, 1987).

Una dieta inestable donde se pierden por lixiviación los nutrientes, afecta el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas, ya que no sólo se disminuye la disponibilidad de la dieta, sino que se incrementa la contaminación del agua y se fomenta la producción bacteriana (Amjad y Jones, 1989). Una forma de evitar este problema es incrementar la frecuencia de suministro de alimento y disminuir la dosis de la dieta. Esta dificultad también podría evitarse considerando al mismo tiempo, las características de disolución de las dietas y los hábitos de alimentación de las larvas, utilizando este conocimiento para establecer un programa de alimentación.

Cuadro 8. Tiempos característicos de disolución (min) de los experimentos y tratamientos para elaborar las microcápsulas

Tratamiento	E-421	E-431	E-821	E-831
GA100	65.78	24.03	47.77	95.97
GM100	99.11	24.15	11.60	87.62
MD100	51.93	17.57	15.76	65.79
GA50-GM50	18.03	15.94	21.70	87.57
GA50-MD50	44.66	14.89	17.25	90.90
GM50-MD50	21.51	13.47	39.78	67.84
GA33-GM33-MD33	54.29	17.42	33.74	59.28
GA66-GM17-MD17	68.45	23.03	41.89	108.70
GA17-GM66-MD17	76.45	19.86	42.14	47.30
GA17-GM17-MD66	67.80	15.18	84.16	43.27

Las larvas, que tienen un sistema digestivo subdesarrollado, requieren de una cantidad finita de tiempo para consumir una dieta. Se ha estimado que la digestión, desde la ingesta hasta la evacuación, ocurre en 12 a 20 minutos. Estableciendo un tiempo característico de disolución de 60 min para seleccionar las dietas microencapsuladas más estables, se estará proporcionando un tiempo amplio para asegurar

que las larvas tengan una ingesta adecuada de la dieta con el contenido nutritivo esperado.

De los 40 tratamientos establecidos en el diseño experimental, solamente 14 cumplieron con el criterio de selección descrito antes. Las diferencias encontradas en los tiempos característicos de disolución pueden relacionarse a la naturaleza y a la configuración de los biopolímeros que conformaron la pared. El mayor tiempo característico de disolución (108.7 min) correspondió al tratamiento GA66-GM17-MD17, experimento E-831. A pH 8.0, tanto la GA como la GM tienen una configuración bastante expandida debido a la ionización de sus grupos terminales glucurónicos (Glicksman, 1983), mientras que la MD exhibe una configuración más compacta. Ambas gomas, la GA y la GM tienen una cantidad significativa de proteína unida covalentemente a la estructura principal de polisacáridos (Islam y col., 1997; Vernon-Carter y col., 1998) y tienden a adsorberse fuertemente en la interfase de la dieta-agua, proyectando la porción más larga de sus moléculas hacia la fase acuosa. Aquí tiene lugar el entretrejo e interpenetración de las capas adyacentes, atrapando o manteniendo en su ámbito a las moléculas más pequeñas de la maltodextrina. Además, las nuevas moléculas que van arribando y difundiéndose hacia la interfase se enredan con las moléculas ya adsorbidas, formando multicapas. Las multicapas se mantienen juntas por las interacciones por puentes de hidrógeno, por las interacciones proteína-proteína y por las ramificaciones o estructuras físicas de las moléculas biopoliméricas. El efecto es una película hidratada, coherente y densa, cubriendo a la dieta.

En contraste, el tratamiento GA17-GM17-MD66, del experimento E-421, mostró el segundo tiempo característico de disolución, más bajo entre las microcápsulas seleccionadas. Aquí, ambas gomas GA y GM, a valores de pH de 4.0 exhiben una forma esférica muy contraída, debido al bajo grado de ionización. La relativamente alta concentración de las moléculas de MD y su tamaño, en contraste con la GA y la GM, favorecen su difusión hacia la interfase. Esto da una interfase dominada por moléculas de MD, las cuales se adsorben pobremente debido a la carencia de grupos hidrofóbicos. Las moléculas de GA y GM interactúan poco entre ellas, ya que el entrecruzamiento de sus capas adyacentes está limitado debido a la compactación de su configuración. Además, como las interacciones polímero-polímero están favorecidas por sobre las interacciones agua-polímero, la hidratación de la capa adsorbida no alcanza un máximo potencial. El resultado es fundamentalmente una película poco coherente, en la cual las moléculas de GA y de GM disputan los sitios interfaciales, desplazando a las moléculas de MD de la interfase; más aún, estas moléculas están débilmente unidas en la interfase debido a la carencia de interacción entre las moléculas adyacentes adsorbidas.

Interpretación de la disolución de los productos microencapsulados a partir de la ecuación de difusión

Análisis de la difusión con difusividad variable. Algunas consideraciones teóricas sobre la disolución se refieren a que una vez que las microcápsulas entran en el agua, ocurre un proceso de absorción y transferencia de agua induciendo un hinchamiento, teniéndose entonces un régimen de hidratación parcial. En la interfase, muy probablemente el sólido hidratado sea más débil que el resto de la matriz, por lo que la difusión tendría lugar precisamente en la interfase.

Cinética de flotabilidad

Como en el caso de la cinética de disolución, se encontró que la constante de tiempo de flotación fue más útil que la tasa de flotabilidad para describir el comportamiento de las microcápsulas. La constante de tiempo característico de flotabilidad de los diferentes tratamientos (cuadro 9) varió entre 1.55 y 11.11 min. Se decidió establecer como criterio de discriminación para la selección de los productos microencapsulados, que el tiempo de flotabilidad no debía ser menor de 5 min. Este tiempo fue considerado como suficiente para los propósitos perseguidos, ya que se determinó en una columna estática de agua, mientras que en las prácticas de cultivo reales el sistema acuoso se encuentra aireado por burbujas de alrededor de 1 cm (Kurmaly y cols., 1989) lo cual proporciona flotabilidad extra a la dieta. De esta manera, se asegura que la dieta esté disponible para el consumo por las larvas, dado su bajo metabolismo. El tratamiento que mostró el mayor tiempo característico de flotabilidad (11.11 min) fue el GA33-GM33-MD33. Como en el caso de la explicación dada para el tiempo característico de disolución del tratamiento GA66-GM17-MD17, puede concluirse que la dieta está cubierta por multicapas espesas, coherentes e hidratadas de los tres biopolímeros, todas íntimamente intermezcladas.

Cuadro 9. Tiempos característicos de flotabilidad (min) de las microcápsulas de los diferentes experimentos y tratamientos

Tratamiento	E-421	E-431	E-821	E-831
GA100	4.65	7.28	3.74	7.07
GM100	4.79	4.77	4.40	5.75
MD100	3.13	2.84	2.97	1.71
GA50-GM50	6.25	5.75	7.33	4.16
GA50-MD50	6.68	4.29	3.54	5.07
GM50-MD50	1.09	5.79	2.30	4.36
GA33-GM33-MD33	2.86	4.86	1.55	11.11
GA66-GM17-MD17	2.85	5.76	2.18	5.95
GA17-GM66-MD17	3.23	6.24	1.88	5.34
GA17-GM17-MD66	3.18	4.60	4.62	3.97

El alto grado de hidratación de las multicapas minimiza la diferencia de densidad entre la fase acuosa y la fase dispersa y también tiene efecto contra la sedimentación.

Por otra parte, el tratamiento GA50-MD50, del experimento E-831, tuvo un menor tiempo característico de flotabilidad (5.07 min). Aquí, las moléculas de GA se encuentran completamente extendidas, mientras que las moléculas de MD que son considerablemente más compactas y de tamaño pequeño, se difunden más rápidamente a la interfase.

A medida que las moléculas de GA llegan a la interfase, desplazan a las moléculas de MD, las cuales tienden a formar parte de las multicapas. Sin embargo, las interacciones entre las moléculas de GA y las MD son débiles, dando como resultado multicapas densas y más compactas que causan la precipitación más rápida de las microcápsulas. Esta discusión se fortalece al observar las constantes de tiempo característico de los tratamientos MD100 y GA17-GM17-MD66.

De esta forma, utilizando ambos criterios para la selección de las diferentes formulaciones de las microcápsulas, sólo 5 tratamientos cumplieron con las especificaciones; éstos se presentan en el cuadro 10 y todos corresponden al experimento E-831.

Cuadro 10. Microcápsulas seleccionadas después de aplicar los criterios de discriminación
(tiempos característicos)

Tratamiento	Experimento	Disolución (min)	Flotabilidad (min)
GA100	E-831	95.97	7.07
GM100	E-831	87.62	5.75
GA50-MD50	E-831	90.90	5.07
GA33-GM33-MD33	E-831	59.28	11.11
GA66-GM17-MD17	E-831	108.70	5.95

Capacidad encapsulante de aceites y evaluación de la resistencia a la oxidación

Los resultados de aceite superficial de las microcápsulas obtenidas de los cuatro experimentos se presentan en el cuadro 11.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de clasificación simple, encontrándose diferencia significativa en las tres interacciones de segundo orden ($\alpha=0.05$), es decir entre el valor del pH y la concentración, el valor del pH y el tipo de mezcla y entre la concentración y el tipo de mezcla.

La prueba de Duncan dió el siguiente resultado: Las microcápsulas de GA100 fueron diferentes de MD100, GA50-MD50, GM50-MD50, GA33-GM33-MD33, GA17-GM66-MD17 y de la GA17-GM17-MD66.

Cuadro 11. Contenido de aceite superficial de los microencapsulados

Tratamiento	E-431	E-421	E-831	E-821
GA100	0.189	0.421	0.384	0.281
MG100	0.400	0.475	0.575	0.447
MD100	0.879	1.305	0.646	0.539
GA50-GM50	0.221	0.415	0.502	0.791
GA50-MD50	0.489	0.893	0.885	0.583
GM50-MD50	0.581	0.806	0.820	0.885
GA33-GM33-MD33	0.409	0.927	0.602	0.775
GA66-GM17-MD17	0.326	0.562	0.761	0.761
GA17-GM17-MD17	0.426	0.707	0.760	1.142
GA17-GM17-MD66	0.519	1.154	0.780	0.624

Es evidente que la habilidad de las mezclas propuestas para encapsular aceite, es superior cuando la concentración de encapsulante es mayor, resaltando los tratamientos GA100 y GA50-GM50. La habilidad encapsulante de la goma arábica ha sido evaluada por otros autores, utilizando fundamentalmente aceites esenciales (Westing y col., 1989; Trubiano y Lacourse, 1989; Reineccius, y col., 1995).

A partir de esos resultados puede decirse que la goma arábica ha mostrado una menor habilidad encapsulante con respecto a almidones modificados, lo cual

está en desacuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde la GA mostró las mejores propiedades. Sin embargo hay que considerar que el aceite encapsulado es uno de elevado peso molecular y de alto grado de insaturación conocidos como ácidos grasos poli-insaturados AGPI (PUFA por sus siglas en inglés: Poly Unsaturated Fatty Acids).

Dado que los experimentos con menor concentración de agentes encapsulantes, en general, mostraron malas propiedades de encapsulamiento de aceite, es decir, prácticamente todos los tratamientos de los experimentos E-421 y E-821, presentaron altos contenidos de aceite superficial, se decidió descartarlos para el análisis térmico de oxidación.

En la figuras 13, 14 y 15 se presentan las curvas típicas de flujo de calor contra temperatura para los diferentes valores para el aceite microencapsulado con GA100, GM100 y MD100.

De igual manera se obtuvieron los termogramas para todas las mezclas de los biopolímeros que se presentan en el cuadro 2, mostrando un comportamiento similar al de los polímeros solos (apéndice 7).

Las series de T_{MP} (temperatura máxima de flujo de calor) con sus correspondientes valores de β mostraron una dependencia lineal. Los datos obtenidos a partir de las curvas de la DSC se presentan en los cuadros 12 y 13. Puede observarse, de manera general, que los tratamientos a valores de pH de 4 tuvieron una mayor resistencia a la degradación termo-oxidativa.

Cabe mencionar que recientemente ha cobrado importancia la investigación de metodologías que permitan proteger de la oxidación a los AGPI ya que se reconocen sus beneficios nutricios y no sólo eso, se busca también proporcionarles una cubierta para enmascarar su sabor y de esa manera ampliar las posibilidades de adicionarlos directamente a diversos alimentos.

En cuanto a la estabilidad contra la degradación termo-oxidativa, en todas las mezclas propuestas para formar la pared de las microcápsulas, las temperaturas de pico de las exotermas, superaron los 200°C. Se ha informado también de la protección que brindan otro tipo de materiales encapsulantes hidrofílicos como la albúmina de huevo, caseinatos, g.latina, maltodextrina y carboximetilcelulosa, contra el deterioro de los AGPI. La máxima estabilidad lograda utilizando estos tipos de encapsulantes, medida como el cambio en el índice de polienos ha sido de 6 semanas, con una temperatura pico de 185.14°C, determinada por DSC (Táguichi y col., 1988).

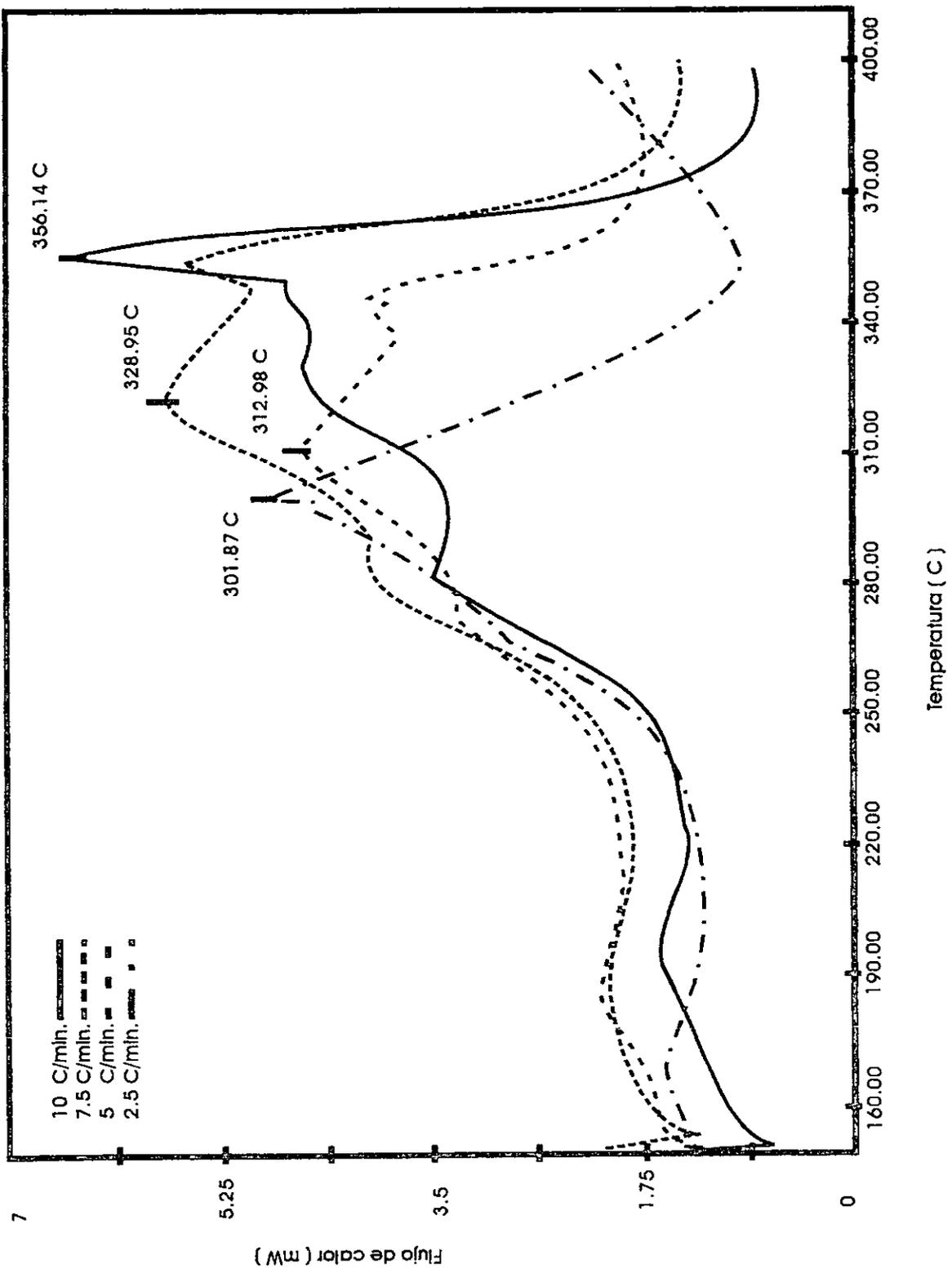


Figura 13. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas GA100, pH 4, relación 3:1

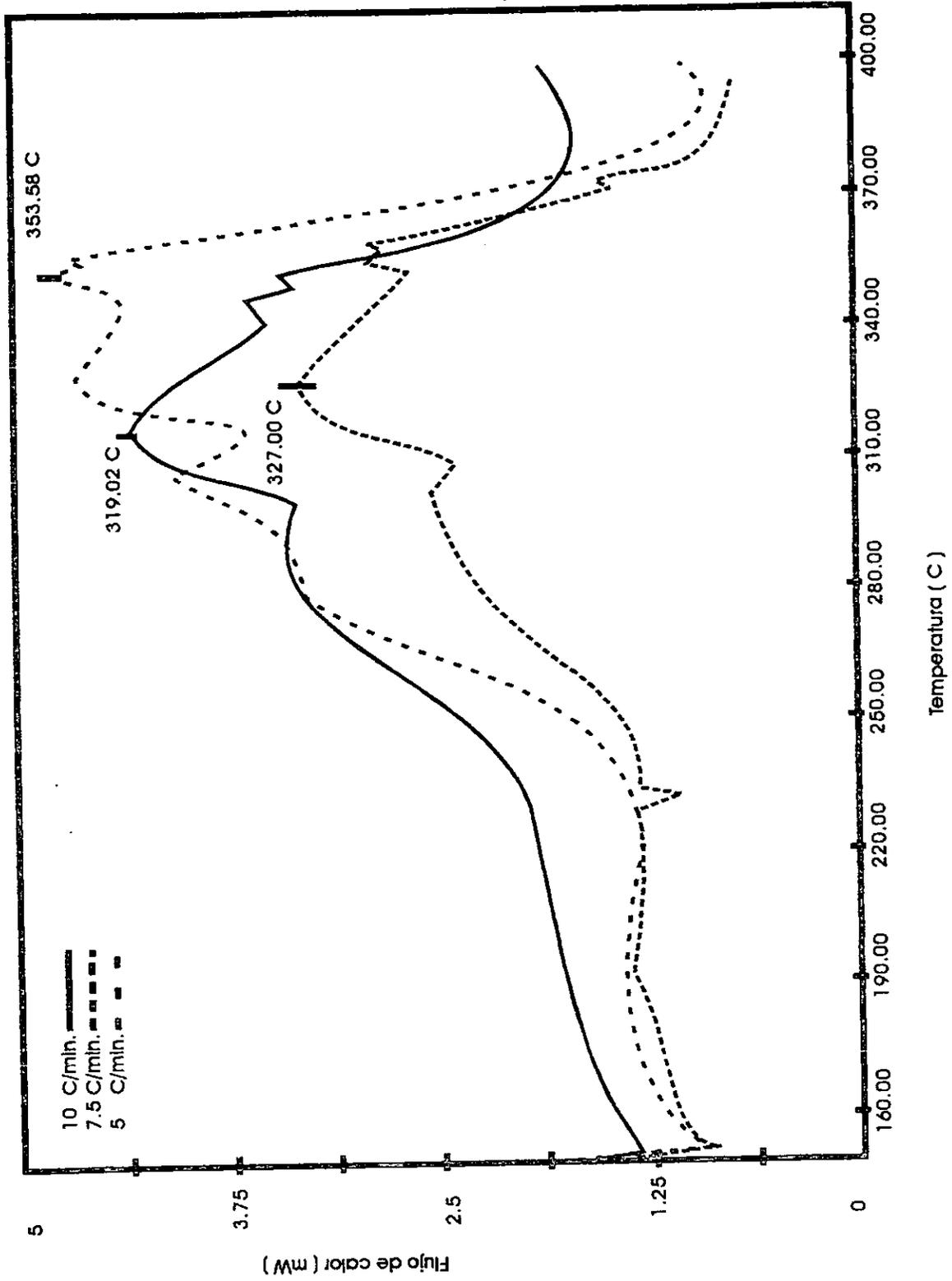


Figura 14. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas GM100, pH 4, relación 3:1

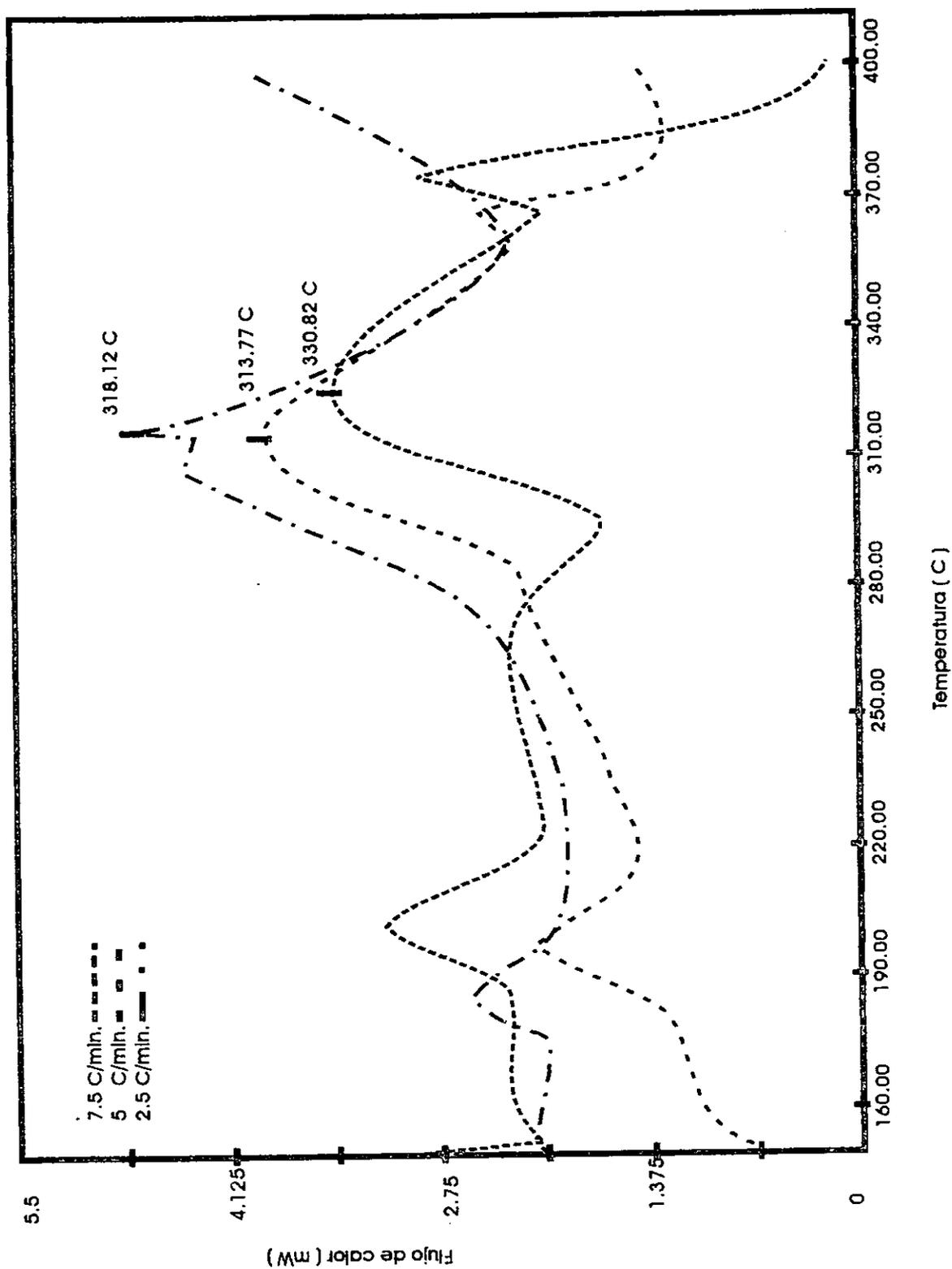


Figura 15. Curvas de flujo de calor para las microcápsulas MD100, pH 8, relación 3:1

Lo anterior sugiere, que los AGPI contenidos en microcápsulas con paredes formadas por las gomas y sus mezclas se degradan con mayor dificultad, proporcionando por tanto una mejor estabilidad.

Resalta el tratamiento con goma de mezquite 100% a valores de pH de 8 con la mayor E_a ($295.99 \text{ kJ mol}^{-1}$) y un tiempo de vida media mayor a 2.6 años. Este comportamiento estaría explicado por la conformación expandida del polímero a ese valor de pH como ya fue mencionado y a su mayor peso molecular.

Cuadro 12. Datos obtenidos de las curvas de CDB por el método ASTM, de las microcápsulas elaboradas a pH 4

Tratamiento	E_a (kJmol^{-1})	Z (min)	K (min^{-1})
GA100	125.99	3.67×10^{10}	3.13×10^{-12}
GM100	112.98	1.799	2.89×10^{-11}
MD100	117.08	5.72×10^9	1.77×10^{-11}
GA50-GM50	160.52	4.73×10^{13}	3.61×10^{-15}
GA50-MD50	167.35	2.66×10^{14}	1.29×10^{-15}
GM50-MD50	121.86	1.33×10^{10}	5.98×10^{-12}
GA33-GM33-MD33	122.81	1.71×10^{10}	5.23×10^{-12}
GA66-GM17-MD17	127.94	5.08×10^{10}	1.97×10^{-12}
GA17-GM66-MD17	153.01	9.50×10^{12}	1.50×10^{-14}
GA17-GM17-MD66	129.89	7.26×10^{10}	1.28×10^{-12}

También podría suponerse un mayor ángulo de giro para los sustituyentes, lo que le conferiría una mejor habilidad para recubrir en relación con la goma arábica, con menor peso molecular (Fenyo y Vandeveld, 1990). Cabe señalar que estas microcápsulas mostraron una estructura de pared compacta (figura 16), a diferencia de la mayoría de los demás tratamientos.

Resalta también el tratamiento con MD100. Aquí, aunque se trata de un polímero de bajo peso molecular (Kenyon y Anderson, 1998) con relación a las gomas, la velocidad de difusión hacia la interfase es mayor, como ya fue discutido anteriormente y por el resultado del valor de la E_a , puede suponerse que existe un recubrimiento con pocos espacios vacíos.

Cuadro 13. Datos obtenidos de las curvas del CDB por el método ASTM, de las microcápsulas elaboradas a pH 8

Tratamiento	E_a (kJmol ⁻¹)	Z (min)	K (min ⁻¹)
GA100	70.27	1.74x10 ⁵	8.5x10 ⁻⁸
GM100	295.99	1.07x10 ²⁶	1.52x10 ⁻²⁶
MD100	228.80	7.50x10 ¹⁰	6.26x10 ⁻²¹
GA50-GM50	120.63	1.17x10 ¹⁰	8.67x10 ⁻¹²
GA50-MD50	95.53	5.83x10 ⁷	1.00x10 ⁻⁹
GM50-MD50	134.98	2.60x10 ¹¹	5.89x10 ⁻¹³
GA33-GM33-MD33	98.78	1.06x10 ⁸	5.28x10 ⁻¹⁰
GA66-GM17-MD17	71.74	3.23x10 ⁵	6.00x10 ⁻⁸
GA17-GM66-MD17	126.68	4.17x10 ¹⁰	2.68x10 ⁻¹²
GA17-GM17-MD66	128.37	6.70x10 ¹⁰	2.18x10 ⁻¹²

De lo aquí encontrado, es evidente que la goma de mezquite se constituye en una alternativa viable para proteger a los AGPI, faltaría evaluar la cinética de liberación de la fracción grasa, en diferentes sistemas alimenticios donde se aplicaran como fortificantes.

Ensayo de adsorción de agua

Se encontraron dos tipos de respuesta de adsorción de agua para los diferentes tratamientos afectados fundamentalmente por la concentración de agente encapsulante. Es decir, los experimentos con concentraciones de agente encapsulante a dieta de 2:1 tuvieron el comportamiento que se presenta en la figura 16, mientras que los de relación 3:1 mostraron un comportamiento diferente (figura 17). Las gráficas de los tratamientos se encuentran en el apéndice 8.

En todos los casos se observó una adsorción rápida de agua durante las primeras horas del ensayo para posteriormente definir el comportamiento descrito. Cabe mencionar, que parece ser un proceso en varios estados que depende posiblemente de una adsorción secuencial de agua hasta cierta capacidad de los polímeros. Es decir, el hinchamiento alcanza diversos estados de pseudo-equilibrio, hay una modificación en la presión osmótica debido a la penetración del solvente, lo que a su vez provoca una relajación del polímero afectando las interacciones polímero-polímero y polímero-solvente. El agua presente provoca el reacomodo de las cadenas poliméricas por efecto estérico para posteriormente seguir adsorbiendo agua. Aunque también habría que considerar que, al mismo tiempo, se está dando un fenómeno de disolución (Ju y col, 1995b).

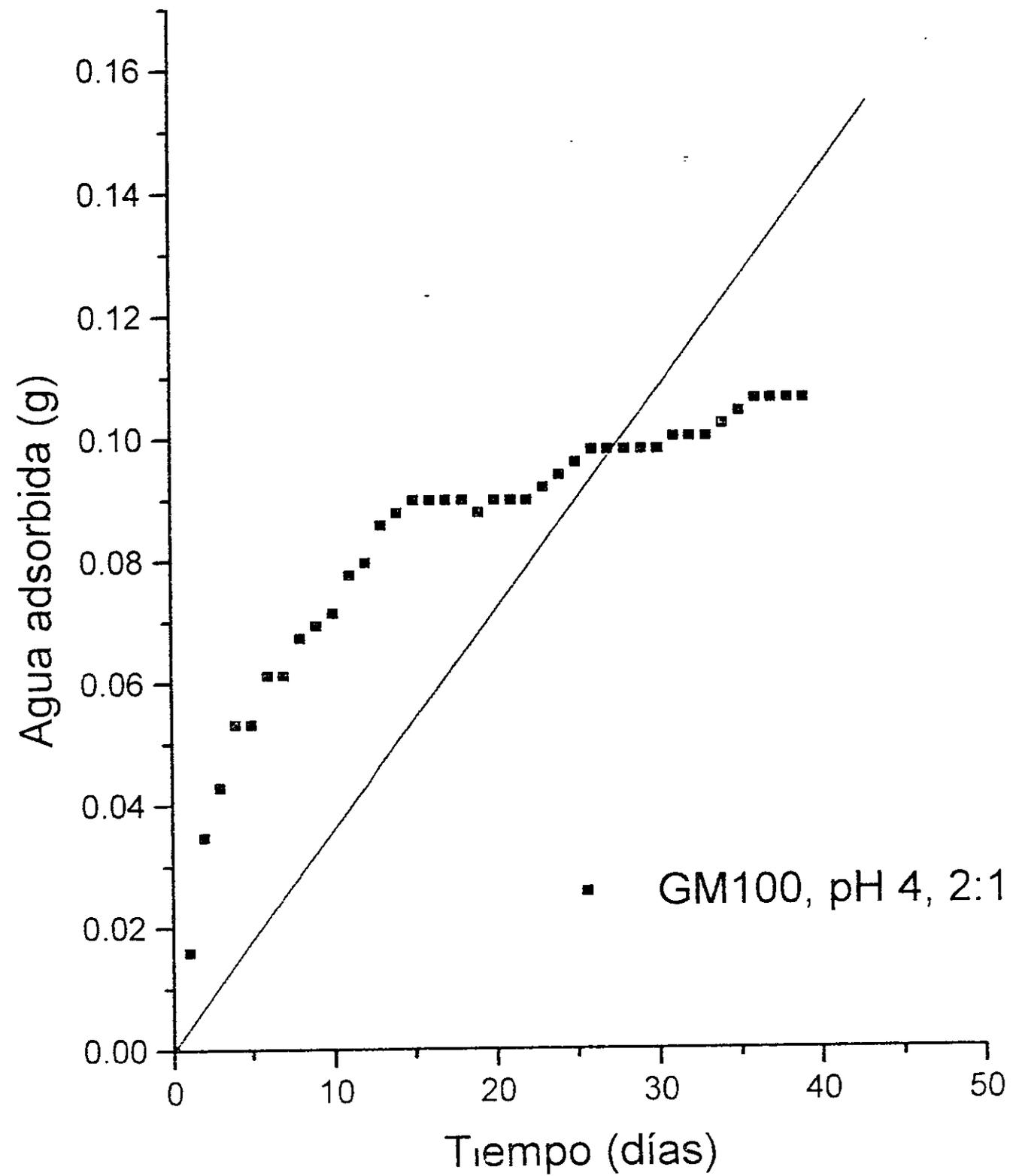


Figura 16. Curva típica de la adsorción de agua de las microcápsulas cuando la relación encapsulante:dieta fue de 2:1

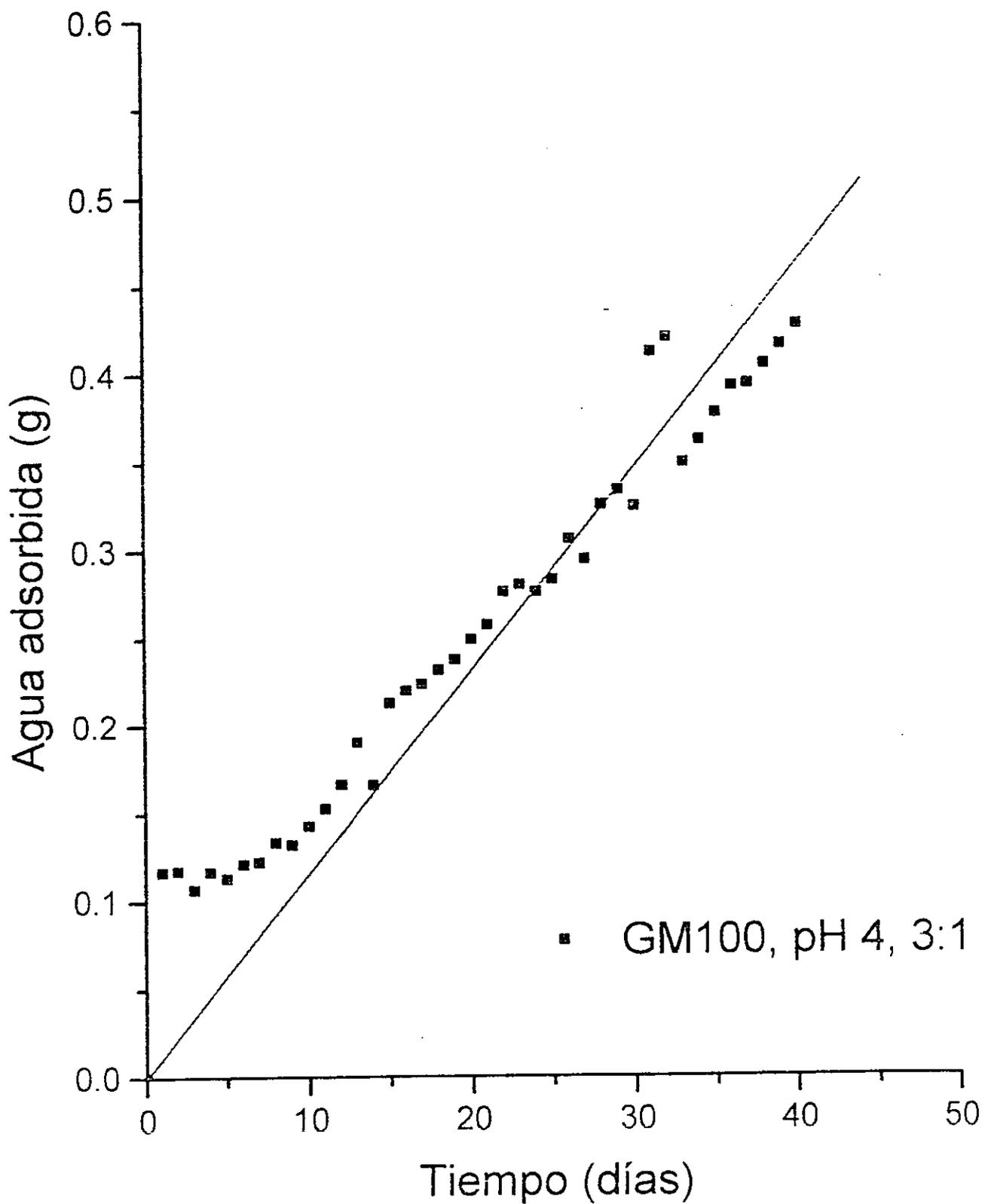


Figura 17. Curva típica de la adsorción de agua de las microcápsulas cuando la relación encapsulante:dieta fue de 3:1

Se forma entonces una interfase tipo gel, resultante de la disolución y el hinchamiento simultáneo del polímero. Esto pudo corroborarse al analizar por microscopía electrónica de barrido las microcápsulas que fueron sometidas a la atmósfera húmeda (figura 18) (apéndice 9).

La microscopía electrónica resultó útil también para determinar el tipo de pared con mayor resistencia a una atmósfera de humedad elevada. Así se observaron tratamientos como el de MD100 a pH 4 y relación encapsulante:dieta de 2:1, cuyas microcápsulas perdieron completamente la forma y ocurrió la disolución de las mismas, o bien el GA66-GM17-MD17 que conservó su forma después de las cuatro semanas de experimentación (figura 19). Es interesante mencionar que los cinco tratamientos seleccionados por los criterios de tiempos característicos de disolución y flotabilidad conservaron su forma durante el ensayo, a excepción del tratamiento GA33-GM33-MD33.

Resultados del bioensayo

Para alimentar a las larvas de *Litopenaeus vannamei* se seleccionó la mejor dieta utilizando los criterios de tiempo característico de disolución y flotabilidad y se denominó dieta A, es decir, fue la dieta cuya pared estuvo constituida por la mezcla de GA66-GM17-MD17 elaborada a valores de pH de 8 y con una relación encapsulante:dieta de 3:1. La dieta B fue seleccionada entre aquellas de menor tiempo característico de disolución y menor flotabilidad, es decir una dieta cuya pared fue de GA50-GM50 elaborada a pH 4 y relación encapsulante: dieta de 3:1.

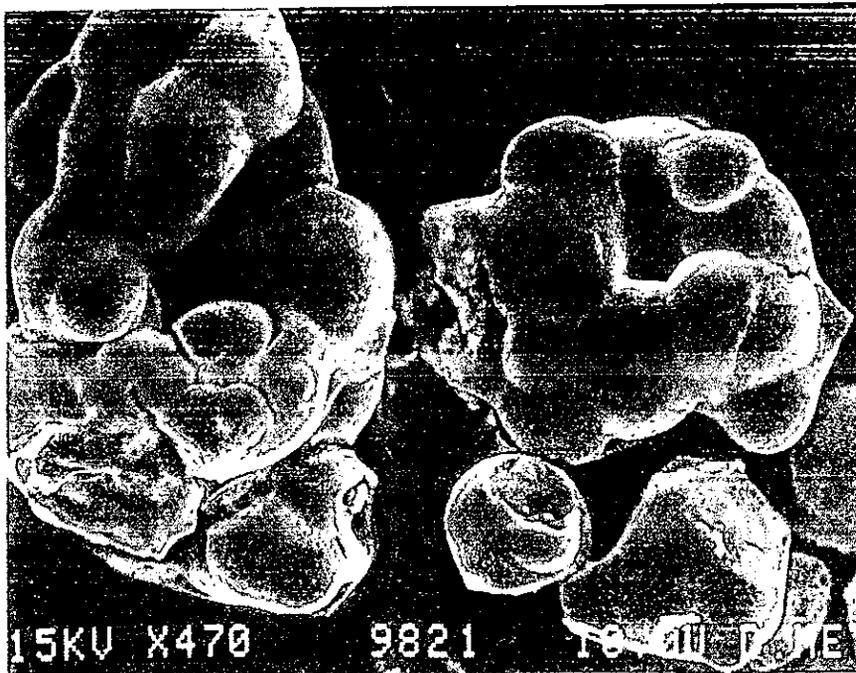
En el cuadro 14 se presentan los resultados para la tasa de crecimiento en longitud y peso, la sobrevivencia, el índice de calidad (IC) y el índice de rendimiento (IR), del bioensayo.

La sobrevivencia fue baja en comparación con otros trabajos realizados en la misma estación experimental de Cd. del Carmen Campeche, donde se informan valores superiores a 80% (García y cols, 1998), esta situación se debió probablemente a problemas con la calidad del agua y con el control de temperatura.

Con los resultados aquí mostrados, donde la dieta denominada A, resultó superior, se corrobora la hipótesis en cuanto a que algunos parámetros característicos de las dietas pueden ser utilizados como criterio de selección. Cabe mencionar que tanto la dieta A como la B tienen la misma composición nutricional, la diferencia está en el tipo de pared que cada una posee. Así, las diferencias pueden atribuirse al comportamiento de las microcápsulas en el sistema acuoso por efecto del tipo de mezcla biopolimérica que se utilizó para formar la pared del producto microencapsulado.

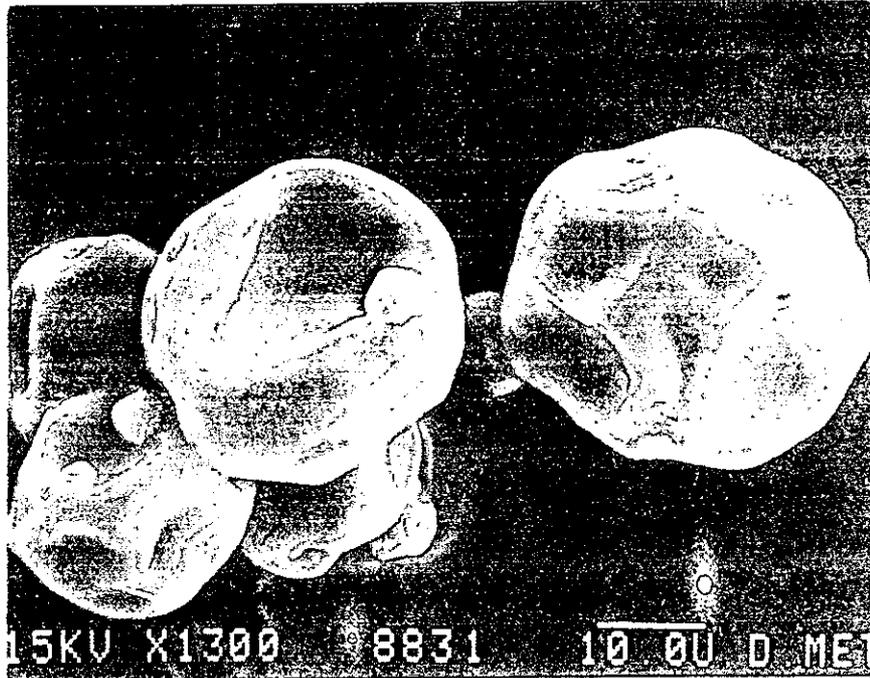


(a)



(b)

Figura 18. Micrografías del estado de las microcápsulas después del almacenamiento durante 4 semanas a 74% H. R. (a) tratamiento GM50-Md50, pH 4, relación 2:1, (b) tratamiento Ga17-GM66-MD17, pH 8, relación 2:1



(a)



(b)

Figura 19. Micrografías del estado de las microcápsulas después del almacenamiento durante 4 semanas al 74% H.R. (a) tratamiento GA66-GM17-MD17, pH 8, relación 3:1, (b) tratamiento MD100, pH 4, relación 2:1

Cuadro 14. Parámetros de desarrollo evaluados en el bioensayo con larvas de *Litopenaeus vannamei* probando dos tipos de microcápsulas

MI-PL1	Control	A c/a	B c/a	A s/a	B s/a
Longitud, μm	227.3 \pm 23.8 ^a (13)	225.6 \pm 10.6 ^a (15)	128.9 \pm 15.1 ^b (14)	189.5 \pm 17.6 ^a (12)	81.4 \pm 16.2 ^b (11)
Peso, μg	11.86 \pm 1.6 ^a (13)	9.85 \pm 1.42 ^{ab} (15)	4.04 \pm 0.96 ^c (14)	6.16 \pm 1.28 ^{bc} (12)	2.75 \pm 0.57 ^c (11)
IC	100 ^a (4)	100 ^a (4)	96.5 \pm 10 ^a (4)	96.25 \pm 13 ^a (4)	96.5 \pm 10 ^a (4)
Sobrevivencia	33.9 \pm 10 ^a (4)	45.2 \pm 5 ^a (4)	49.5 \pm 12 ^a (4)	45.8 \pm 12 ^a (4)	40.5 \pm 6 ^a (4)
IR, $\mu m/día$	75	101.5	60.9	83.5	31.8
IR, $\mu g/día$	4.02	4.45	1.92	2.71	1.07

Los números entre paréntesis corresponden al número de muestras

5. CONCLUSIONES

El tamaño de partícula fue afectado por el valor de pH, la relación de agente encapsulante y dieta y por el tipo de mezcla biopolimérica.

Las interacciones binarias entre los biopolímeros fueron las que mostraron efecto significativo sobre la media volumétrica del tamaño de partícula.

A mayor concentración de agente encapsulante, mayor tamaño de partícula. Lo mismo para los tratamientos a valores de pH de 8 con relación a los de pH de 4.

Las características morfológicas y microestructurales de las microcápsulas también se vieron afectadas por el tipo de mezclas utilizada. En general, todas las microcápsulas fueron casi esféricas caracterizándose por su superficie dentada, a excepción de las elaboradas con maltodextrina 100% cuya morfología no fue uniforme.

Las microcápsulas de morfología más uniforme y sin defectos, fueron las de pared de goma de mezquite.

Cuadro 14. Parámetros de desarrollo evaluados en el bioensayo con larvas de *Litopenaeus vannamei* probando dos tipos de microcápsulas

MI-PL1	Control	A c/a	B c/a	A s/a	B s/a
Longitud, μm	227.3 \pm 23.8 ^a (13)	225.6 \pm 10.6 ^a (15)	128.9 \pm 15.1 ^b (14)	189.5 \pm 17.6 ^a (12)	81.4 \pm 16.2 ^b (11)
Peso, μg	11.86 \pm 1.6 ^a (13)	9.85 \pm 1.42 ^{ab} (15)	4.04 \pm 0.96 ^c (14)	6.16 \pm 1.28 ^{bc} (12)	2.75 \pm 0.57 ^c (11)
IC	100 ^a (4)	100 ^a (4)	96.5 \pm 10 ^a (4)	96.25 \pm 13 ^a (4)	96.5 \pm 10 ^a (4)
Sobrevivencia	33.9 \pm 10 ^a (4)	45.2 \pm 5 ^a (4)	49.5 \pm 12 ^a (4)	45.8 \pm 12 ^a (4)	40.5 \pm 6 ^a (4)
IR, $\mu m/día$	75	101.5	60.9	83.5	31.8
IR, $\mu g/día$	4.02	4.45	1.92	2.71	1.07

Los números entre paréntesis corresponden al número de muestras

5. CONCLUSIONES

El tamaño de partícula fue afectado por el valor de pH, la relación de agente encapsulante y dieta y por el tipo de mezcla biopolimérica.

Las interacciones binarias entre los biopolímeros fueron las que mostraron efecto significativo sobre la media volumétrica del tamaño de partícula.

A mayor concentración de agente encapsulante, mayor tamaño de partícula. Lo mismo para los tratamientos a valores de pH de 8 con relación a los de pH de 4.

Las características morfológicas y microestructurales de las microcápsulas también se vieron afectadas por el tipo de mezclas utilizada. En general, todas las microcápsulas fueron casi esféricas caracterizándose por su superficie dentada, a excepción de las elaboradas con maltodextrina 100% cuya morfología no fue uniforme.

Las microcápsulas de morfología más uniforme y sin defectos, fueron las de pared de goma de mezquite.

La estructura interna de las microcápsulas tuvo como característica una arquitectura en la cual los ingredientes de la dieta se distribuyeron en una matriz de agente encapsulante y con el centro vacío.

La elección de los tiempos característicos de disolución y flotabilidad como criterios de selección para evaluar dietas microencapsuladas permitió determinar los mejores tratamientos potenciales. Los 5 tratamientos seleccionados correspondieron al experimento a pH 8 y relación encapsulante: dieta de 3 a 1, siendo imprescindible la presencia de, al menos una, de las gomas dentro del material que conforma la pared.

La microencapsulación puede mejorar eficientemente la estabilidad térmica oxidativa de los ácidos grasos contenidos en la dieta para larvas de crustáceos, dependiendo del tipo de pared. Las mejores microcápsulas para este propósito fueron aquellas cuya pared fue con goma de mezquite 100% y las de maltodextrina 100%.

Se han sentado las bases para la evaluación integral de dietas artificiales microencapsuladas, contribuyendo para el diseño de dietas haciendo más eficiente la selección de dietas potenciales, disminuyendo los costos y el tiempo de experimentación por bioensayos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Amjad, S. y Jones, D.A. (1989). (Abstract). A comparison of the stability of some artificial feeds used in penaeid larval culture. *J. World Aquacult. Soc.*, 20, 12 A.
- Amjad, S. y Jones, D.A. (1992). An evaluation of artificial larval diets used in the culture of penaeid shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius). *Pakistan J. Zool.*, 24 (2), 135-142.
- Anderson, D. M. W. (1977) Water soluble exudates. Part 1: Gum arabic. *Process Biochem.* 24-26.
- Anderson, D. M. W. y Farquhar, J. G. K. (1982). Gum exudates from genus *Prosopis*. *Intern. Tree Crops J.* 2, 15-24.
- Anderson, D. M. W. y Weiping, W. (1989) The characterization of proteinaceous *Prosopis* (mesquite) gums which are not permitted food additives. *Food Hydrocoll.* 3, 235-242.
- Angulo, J.L. (1998). Caracterización fisicoquímica de polímeros. Limusa Noriega editores. México, F.F. México. Pp. 23-31.
- ANSI/ASTM E 698-79. (reaprobado en 1984) Standard test method for Arrhenius kinetic constants for thermally unstable materials. ASTM, Filadelfia, PA. EEUUA
- Ashrady, R. (1993). Microcapsules for food. *J. Microencapsulation*, 10, 413-135.
- Balassa, L. y Brody, J. (1968). Microencapsulation. *Food Engineering*, November, 88-91.
- Bangs, W.E. y Reineccius, G.A. (1989). Corn Starch derivatives: possible wall materials for spray-dried flavor manufacture. En: *Flavor Encapsulation*. S.J. Risch and G.A. Reineccius eds. 2th ed. ACS Symposium Series 370. USA. Pp:12-28. Washington, D.C. EEUUA.
- Bengston, D.A. (1993). A comprehensive program for the evaluation of artificial diets. *J. World Aquaculture Soc.* 24(2), 285-293.
- Benneman, J.R. (1992). Microalgae aquaculture feeds. *J. Applied Phycol.* 4, 233-245
- Beristáin, C.I. (1996). Estudio de las propiedades termodinámicas de microencapsulados por hidrocoloides naturales obtenidos por secado por aspersión y de la relación con su estabilidad. Tesis doctorado. UAM-I. México, D.F. México.
- Beristáin, C. I. y Vernon-Carter, E. J. (1995) Studies on the interaction of arabic (*Acacia senegal*) and mesquite (*Prosopis juliflora*) gum as emulsion stabilizing agents. *Drying Technol.* 13, 455-461.
- Beynon, R. J. y Easterby, J. S. (1996) Buffer Solutions. The Basics. IRL Press. Oxford University Press. Reino Unido. p 53.
- Biedenbach, J.M., Smith, L.L. y Lawrence, A.L. (1990). Use a new spray-dried algal product in *Penaeid* larviculture. *Aquaculture* 86: 249-257.
- Brown, M.R.S., Jeffrey, S.W., S.W., Volkman, J.K. y Dunstan, G.A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Castell, J. y Kean, J. (1986). *The crustacean Nutrition Newsletter* 3 (1): 12-13.
- Chamberlain, G.W. (1995). Frontiers in shrimp nutrition research. En *Swimming through troubled Waters*. C.L. Browdy y J.S. Hopkins (eds). Proc. of the Special Session on Shrimp Farming. World Aquaculture Soc. Pp 108-117. San Diego, CA, EEUUA.

- Chang, T.M.S., MacIntosh, F.C. y Mason, S.G. (1966). Semipermeable aqueous microcapsules. I. Preparation and properties. *Canadian J. Physiol. Pharmacol.* 44: 115-128.
- Chang, Y.I., Scire, J. y Jacobs, B. (1989). Effect of particle size and microstructure properties on encapsulated orange oil. En: *Flavor Encapsulation*. S.J. Risch y G.A. Reineccius (eds) 2. Ed. ACS Symposium Series 370 . Pp: 87-102. Washington, D.C. EEUUA
- Chen, A.C., Veiga, M.F. y Rizzuto, A.B. (1988). Cocrystalization: an encapsulation process. *Food Technology*, November: 87-89.
- Cruz, A. y Ortega, S. (1989). La selección del tamaño de las partículas alimenticias por las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* X(2): 163-174.
- Fenyo, J. C. y Vandeveld, M. C. (1990) Physico-chemical properties of gum arabic in relation to structure. En: *Gums and Stabilisers in the Food Industry 5* (eds. G. O. Phillips, Wedlock, D. J. y Williams, P. A.), p. 17, IRL Press. Oxford, Reino Unido.
- Flores, T.A. (1988). Aspectos generales de la producción larvaria de camarón. En: *Memorias del Seminario Nacional de cultivo Larvario de camarón Peneido*. Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. San Blas, Nayarit. México.
- García, T., Gaxiola, G., García-Galano, T., Pedroza, R., Soto, L. López, N. y Rosas, C. (1998) Influencia de las proteínas dietéticas sobre el crecimiento, la sobrevivencia y el rendimiento de las postlarvas del camarón blanco (*Penaeus setiferus*) y del camarón rosado (*P. duorarum*) del Golfo de México. *Revista Aquatic* 2. <http://aquatic.unizar.es/N1/art/202/camaron.htm>
- Gardner, G.L. (1966). Manufacturing encapsulated products. *Chemical Engineering Progress* 62 (4): 87-91.
- Gaxiola, G. (1991) Requerimientos nutricionales en postlarvas de *P. schmitti*: Relaciones proteína/energía y proteína animal/vegetal. Tesis de Maestría de la Universidad de La Habana. Centro de Investigaciones Marinas. Cuba.
- Glicksman, M. (1983) Gum arabic (Gum *Acacia*). En: *Food Hydrocolloids* Vol. II (ed. M. Glicksman, Cap. 1. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. EEUUA
- Goycoolea, F. M., Morris, E. R., Richardson, R. K. y Bell, A. E. (1995) Solution rheology of mesquite gum in comparison with gum arabic. *Carbohydr. Polym.* 27, 37-45.
- Goycoolea, F. M., Calderón de la Barca, A. M., Balderrama, J. R. y Valenzuela, J. R. (1997) Immunological and functional properties of the exudate gum from Northwestern Mexican mesquite (*Prosopis* spp.) in comparison with gum arabic. *Int. J. Biological Macromol.* 21, 29-36.
- Hare, L. B. (1974) Mixture designs applied to food formulation. *Food Technol.* 3, 50-62.
- Islam, A. M., Phillips, G. O., Sijivo, A., Snowden, M. J. y Williams, P. A. (1997) . A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocoll.* 11, 493-505.
- Jaime, B. y García, T. (1990). Influencia del alimento en el crecimiento y supervivencia de las postlarvas avanzadas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* XI (1): 71-76.

- Jalil, R. y Nixon, J. R. (1990). Microencapsulation using poly (L-lactic acid) III Effect of polymer molecular weight on the microcapsule properties. *J. Microencapsulation* 7, 41-52.
- Jayaram, M.G. y Shetty, H.P.C. (1981). Formulation, processing and water stability of two new pelleted fish feeds. *Aquaculture* 23, 355-359.
- Jones, D.A., y Gabbott, P.A. (1976). Prospects for the use of microcapsules as food particles for marine particulate feeders. En *Microencapsulation* J.R. Nixon (editor). Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Marcel Dekker, Inc. Vol 3, pp 77-91.
- Jones, D.A., Kanazawa, A. y Rahman, S.A. (1979). Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 17: 33-43.
- Jones, D.A., Holland, D.L. y Jaborie, S. (1984). Current status of microencapsulated diets for aquaculture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 10: 275-288.
- Jones, D.A., Kurmaly, K. y Arshard, A. (1987). Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture* 64: 133-146.
- Jones, D.A., Mumford, J.G. y Gabbot, P.G. (1974). Microcapsules as artificial food particles for aquatic filter feeders. *Nature (London)* 247: 233-235.
- Jones, D.A., Kamarudin, M.S. y Le Vay, L. (1993). The potential of replacement of live feeds in larval culture. *J. World Aquacult. Soc.* 24: 199-210.
- Jones, D.A. (1995). Frippak-the facts. A response to the article by P.R. Muir and D.C.Sutton, *J. World Aquaculture Soc.* 26(2):220-222
- Jones, D.A., Kumlu, M., Le-Vay, L. y Fletcher, J. (1997a). The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. *Aquaculture* 155, 285-295.
- Jones, D.A., Yule, A. y Holland, D.L. (1997b). Larval nutrition. En: *Crustacean Nutrition* D.Conklin, L.R. D'Abramoy D.M. Akiyama (Eds) . Adv. in World Aquaculture Vol. 6. World Aquaculture Soc. Baton Rouge, L.A. EEUUA.
- Jones, D.A., Bridson, P., Freeman, M., Latchford, J., Martinez-Palacios, C.A., Misciatelli, N. Ribeiro, F.A., Sirvas-Rowlands, S. y Simoes, F. (1997c). Progress in the use of artificial feeds in Penaeid larval cultures. *J. Mar. Biotechnology*
- Ju, R.T., Nixon, P.R. and Patel, M.V. (1995a). Drug release from hydrophilic matrices. 1. New Scaling laws for predicting polymer and drug release based on the polymer disentanglement Concentration and the diffusion layer. *J. Pharmaceutical Sciences* 84 (12): 1455-1463.
- Ju, R.T., Nixon, P.R., Patel, M.V. y Tong, D.M. (1995b). Drug release from hydrophilic matrices. 2. Mathematical model based on the polymer disentanglement concentration and the diffusion layer. *J. Pharmaceutical Sciences* 84 (12): 1464-1477.
- Kanazawa, D. A., Teshima, S., Inamori, S., Sumida, S. e Iwashita, T. (1982). Rearing of larval red seabream and ayu with artificial diets. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.* 31: 185-192
- Kanazawa, D. A. y Teshima, S. (1988). Microparticulate diets for fish larvae. En: *New and innovative advances in Biology-Engineering with potential for use in Aquaculture*. Sparks, A.K. (editor). NOAA Tech. Rep. NMFS 70, Natl. Mar. Fish Serv. November. Seattle, Washington, EEUUA.
- Karel, M. (1990). Encapsulation and controlled release of food components. En: *Biotechnology and Food Process Engineering*. Schwartezberg H.G and Rao, M.A. Eds.

IFT Basic Symposium Series. Marcel Dekker, Inc. P.p. 277-293. EEUUA.

Kenyon, M. y Anderson, R. (1988) Maltodextrin and low-dextrose equivalent corn syrup solid: production and technology for the flavor industry. En: *Flavor encapsulation* (ed. S. Risch and G. Reineccius), p. 7, A.C.S. Symposium Series 370. American Chemical Society, Washington, D. C. EEUUA.

Kim, Y. D., Morr, C. V. y Schenz, T. W. (1996) Microencapsulation properties of gum arabic and several food proteins: Liquid orange oil emulsion particles. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1308-1313.

Kirk-Othmer (1981). Microencapsulation. Encyclopedia of Chemical Technology. 3. ed. J. Wiley and Sons. Nueva York. Vol. 15, pp 447-480. N.Y. EEUUA

Kurmaly, K., Jones, D.A., Yule, A.B. and East, J. (1989). Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa 1 to Postlarva 1, on live feeds, artificial diets and on combination of both. *Aquaculture* 81, 27-45.

Lang, I. y Gil. V.C. (1991) Nutritional value of spray-dried *Tetraselmis suecica* for juvenile bivalves. *Aquaculture* 92: 207-218

Langdon, C.J., Levine, D.M. y Jones, D.A. (1985). Microparticulate feeds for marine suspension-feeders. *J. Microencapsulation* 2(1): 1-11

Levine, D.M., Sulkin, S.D. y Van-Heukelem, L. (1983). The design and development of Microencapsulated diets for the study of nutritional requirements of brachyuran crab Larval. En: *The Culture of Marine Invertebrates: Selected Readings*. C.J. Berg (Ed). Hutchinson Ross, pp. 193-203.

Levy, M.C. y Andry, M.C. (1991). Mixed-walled microcapsules made of cross-linked proteins and polysaccharides: Preparation and properties. *J. Microencapsulation* 8(3):335-347.

Lim, C. y Dominy, W. (1990). Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 87: 53-63.

Lin, Chih-Cheng, Lin, Shan-Yang y Sun Hwang L. (1995). Microencapsulation of squid oil with hydrophilic macromolecules for oxidative and thermal stabilization. *J. of Food Sci.* 60 (1): 36-39.

Litwienko, G., Kasprzycka-Guttman, T. and Jarosz-Jarszewska, M. (1995). Dynamic and Isothermal DSC investigation of the kinetics of thermooxidative decomposition of some edible oils. *J. Thermal Analysis* 45: 741-750.

López-Alvarado, J., Langdon, C.J., Teshima, S. and Kanazawa, A. (1994). Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds. *Aquaculture* 122, 335-346.

Lovett, D.L., Felder, D.L. (1990a). Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea Decapoda, Penaeidae) *Biol. Bull.* 178, 144-159.

Lovett, D.L., Felder, D.L. (1990b). Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea Decapoda, Penaeidae) *Biol. Bull.* 178, 160-174.

Luzzi, L.A. (1970). Microencapsulation. *J. Pharmaceutical Sciences* 59 (10): 1367-1375.

- Masters, K. (1985) *Spray Drying Handbook*. 4a edición. John Wiley and Sons. N. Y. EEUUA
- Martinsen, A., Storro, I. y Skjak-Braek, G. Alginate as immobilization material:III. Difusional properties. *Biotechnology and Bioengineering* 39: 186-194.
- Medina, R.C. (1998). Diseño y evaluación de un alimento nebulizado para la larvicultura de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California, México.
- Montgomery, D.C. (1991). Diseño y análisis de experimentos. Gpo. Editorial Iberoamérica. México, D.F., México.
- Mourente, G. y Rodríguez, A. (1997). Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on Lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. *Mar. Biol.* 128, 289-298.
- Muir, P.R. y Sutton, C. (1994). Bacterial degradation of microencapsulated feed used in larval culture. *J. World Aquaculture Soc.* 25(3), 371-379.
- Ottogali, L. (1991) Total substitution of microparticles for algae for *Penaeus stylirostris* larval Rearing in New Caledonia. *J. World Aquaculture Soc.* 22: 46A
- Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E.J., Durán-Domínguez, C. y Trejo-Martínez, S. (1999). Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation. I. Particle size, morphology and microstructure of microcapsules. *Food Res. Int.* 32 (5):367-374.
- Piedad-Pascual, Cruz, E. y Sumalangcay, A. (1990). Supplemental feeding of *Penaeus monodon* juveniles with diets containing various levels of defatted soybean meal. *Aquaculture* 89: 183-191.
- Pothakamury, U.R. y Barbosa-Canovas, G.V. (1995). Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends Food Sci. Technol.* 6, 397-406.
- Press, W.P., Flannery, B.P., Teukolsky, S.A. y Vetterling, W.T. (1986). *Numerical Recipes: The Art of Science Computing*. Cambridge University Press.
- Preston, N.P., Burford, M.A., Coman, I.E. y Rothlisberg, P.C. (1992). Natural diet of larval *Penaeus merguensis* (Decapoda: *Penaideae*) and its effect on survival. *Mar. Biol.* 113, 181-191.
- Puello-Cruz, A.C. (1998). Requerimientos nutricionales de las larvas de camarón. Notas del curso Internacional de las Larvas de Camarón. ASA, USB, UANL, CIAD-Mazatlán, Sinaloa. México
- Ray, A. K., Bird, P. B., Iacobucci, G. A. y Clark, B. C. Jr. (1995) Functionality of gum arabic. Fractionation, characterization and evaluation of gum fractions in citrus oil emulsions and model beverages. *Food Hydrocoll.* 9, 123-131.
- Ré, M. I. (1998) Microencapsulation by spray drying. *Drying Technol* 16, 1195-1236.
- Reineccius, G.A., Ward, F.M., Whorton, C. and Andon, S.A. (1995). Developments in gum acacias for the encapsulation of flavors. En: ACS-Symposium Series 590.. Pp: 161-168. Washington, D.C. EEUUA
- Rosenberg, M. y Young, S. L. (1993) Whey proteins as microencapsulating agents. Microencapsulation of anhydrous milkfat. Structure evaluation. *Food Struct.* 12, 31-41.
- Rosenberg, M., Kopelman, I. J. y Talmon, Y. (1985). A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *J. Food Sci.* 50, 139-144.

- Sankarikutty, B., Sreekumar, M. M., Narayan, C. S. y Mathew, A. G. (1988) Studies on microencapsulation of Cardamon oil by spray drying technique. *J. Food Sci. Technol.* 25,352-356.
- Sherman, P. (1968) General properties of emulsions and their constituents. En: *Emulsion Science*, editor P.Sherman. Pp. 332, Academic Press, Londres, Reino Unido.
- Sheu, T. Y. y Rosenberg, M. (1995) Microencapsulation by spray-drying ethyl-caprylate whey protein and carbohydrate wall systems. *J. Food Sci.* 60, 98-103.
- Sheu, T. Y. y Rosenberg, M. (1998). Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. *J. Food Sci.* 63, 491-494.
- Skelland, A.H.P. (1974). *Diffusional Mass Transfer*. John Wiley and Sons. Pp:21-28. EEUUA.
- Smith, P.S. (1983). Food starches and their uses. *Proceedings 18th Annual Gum and Starch Technology Symposium*. Noviembre 17. Rochester, N.Y., EEUUA.
- Sorgeloos, P. y Léger, P. (1992). Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and Prawn. *J. World Aquaculture Soc.* 23(4), 251-264.
- Tacon, A.G.J. (1987). The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. A training manual. FAO Field Doc. 2/E.GCP/RLA/075/ITA. Roma, Italia
- Taguchi, K., Iwami, K., Ibuki, F. y Kawabata, M. (1992). Oxidative stability of Sardine embebed in spray-dried egg white powder and its use for n-3 unsaturated fatty acid fortification of cookies. *Biotechnol.Biosci. Biochem.* 56(4): 560-563
- Takenaka H., Kawashima, Y., Chikamatsu, Y. y Ando, Y. (1982). Mechanical properties, dissolution behaviour and stability to oxidation of L-Ascorbyl monoestearate microcapsules prepared by a spray-drying polycondensation technique. *Chem. Pharm. Bull.* 30 (6): 2189- 2195.
- Thesima, S., Kanazawa, A. y Sakamoto, M. (1982). Microparticulate diets for the larvae of aquatic animals. *Min. Rev. Data File Fish. Res.*, 2: 67-86.
- Thies, C (1986) How to make microcapsules. Universidad de Washington. EEUUA.
- Trubiano, P.C. and. Lacourse, N.L. (1989). Emulsion-stabilizing starches: use in flavor encapsulation. En: *Flavor Encapsulation*. S.J. Risch and G.A. Reineccius eds. 2th ed. ACS Symposium Series 370. Pp:45-54. Washington, D.C., EEUUA.
- Vernon-Carter, E.J. (1981) Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis juliflora*) gum in emulsion stabilization. Tesis de Doctorado. Universidad de Londres. Londres, Reino Unido.
- Vernon-Carter, E. J. y Sherman, P. (1981a). Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis juliflora*) gum. 3. The influence of mesquite gum on the interfacial tension between oil and water. *J. Dispersion Sci. Technol.* 2, 381-397.
- Vernon-Carter, E. J. y Sherman, P. (1981b) Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis juliflora*) gum. 4. Rheological properties of mesquite gum films at the oil-water interface. *J. Dispersion Sci. Technol.* 2, 399-413.
- Vernon-Carter, E. J., Gomez, S. A., Beristain, C. I., Mosqueira, G., Pedroza-Islas, R. y Moreno-Terrazas, R. C. (1986). Color degradation and coalescence kinetics of Aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gums and their blends. *J. Texture Studies* 27, 625-641.
- Vernon-Carter, E. J., Pedroza-Islas, R. y Beristain, C. I. (1998). Stability of Capsicum annum oleoresin-in-water emulsions containing *Prosopis* and *Acacia* gums. *J. Texture Studies* 29, 553-567.

Vernon-Carter, E. J., Beristain, C. I. y Pedroza-Islas, R. (1999). Mesquite gum (*Prosopis gum*). En *Novel Macromolecules in Food Systems* (eds. G. Doxastakis and V. Kiosseoglou) Elsevier Science B.V. (en prensa).

Villamar, D.F. y Brusca, G.J. (1987). Survival and growth of *Crangon nigricauda* larvae (Decapoda, *Caridea*) raised on experimental diets. *J. World Aquaculture Soc.* 18 (1): 11-25.

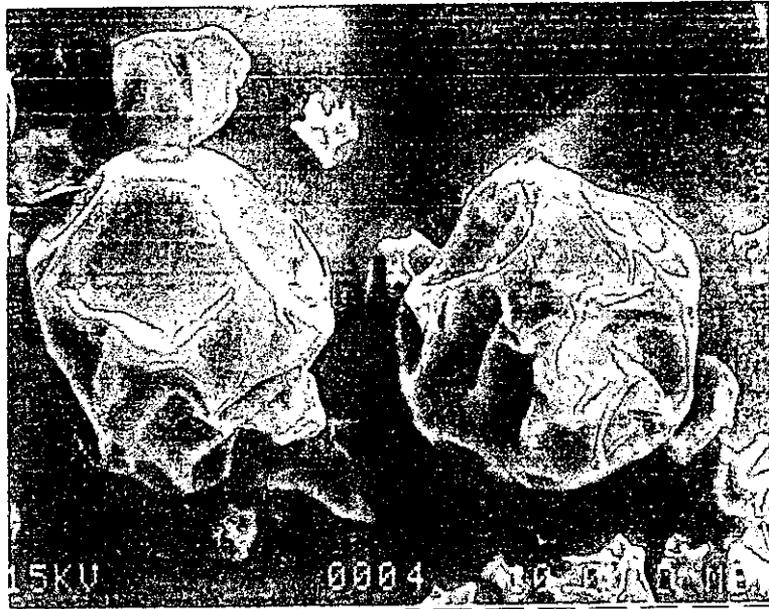
Villegas, C.T. y Kanazawa, A. (1980). Rearing of the larval stage of prawn *Penaeus japonicus* bate, using artificial diet. *Memoirs of the Kagoshima University Research Center for the South Pacific* 1 (1): 43-49.

Wagner, J.G. (1969). Interpretation of percent dissolved-time plots derived from *in vitro* testing of conventional tablets and capsules. *J. Pharm. Sci.* 58, 1253-1257.

Watanabe, A. y Hayashi, T. (1976) Microencapsulation techniques of Fuji Photo Film Co. Ltd and their applications. En *Microencapsulation*. Nixon, J.R. Editor. Marcel Dekker, Inc. Pp: 13-38. N.Y. EEUUA.

Westing, L.L., Reineccius, G.A. y Caporaso, F. (1989). Shelf-life of orange oil: effects of encapsulation by spray-drying, extrusion, and molecular inclusion. En: *Flavor Encapsulation*. S.J. Risch and G.A. Reineccius eds. 2a ed. ACS Symposium Series 370. Pp:110-123. Washington, D.C., EEUUA.

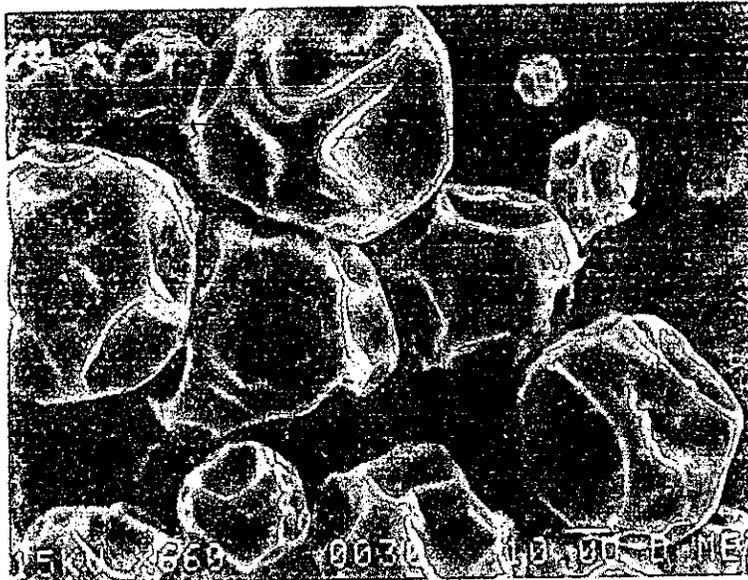
APÉNDICE 1
Micrografías de la morfología microestructural de las microcápsulas



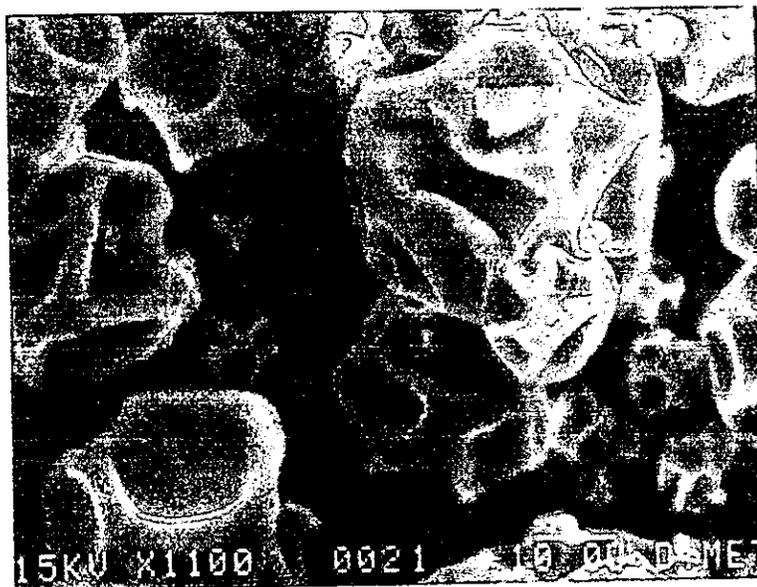
GA100 pH4, rel 2:1



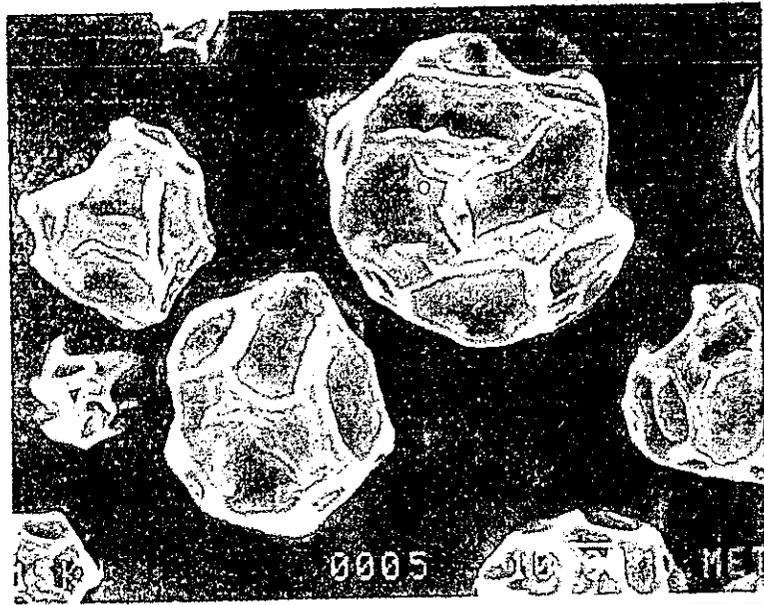
GA100 pH4, rel 3:1



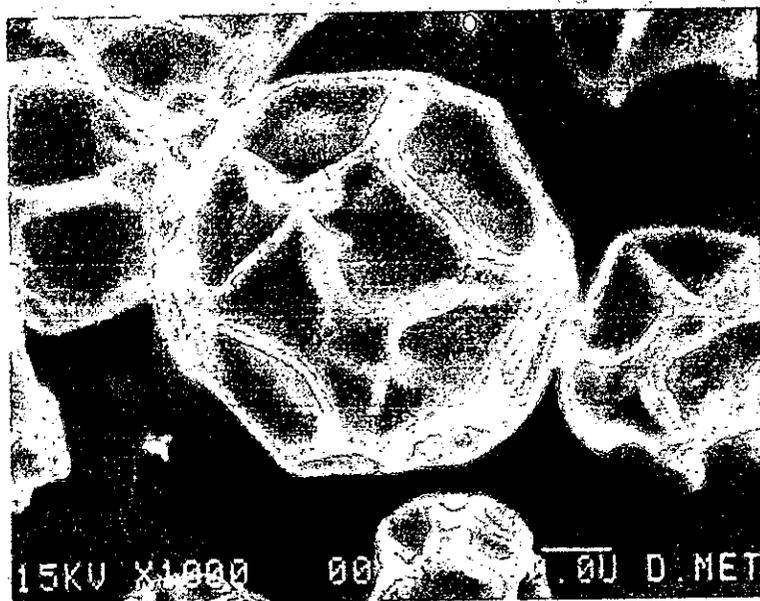
GA100 pH8, rel 2:1



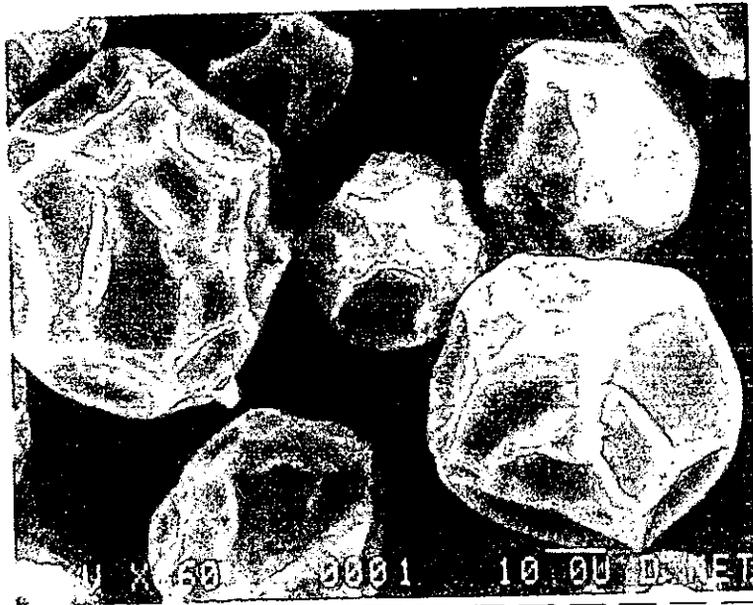
GA100 pH8, rel 3:1



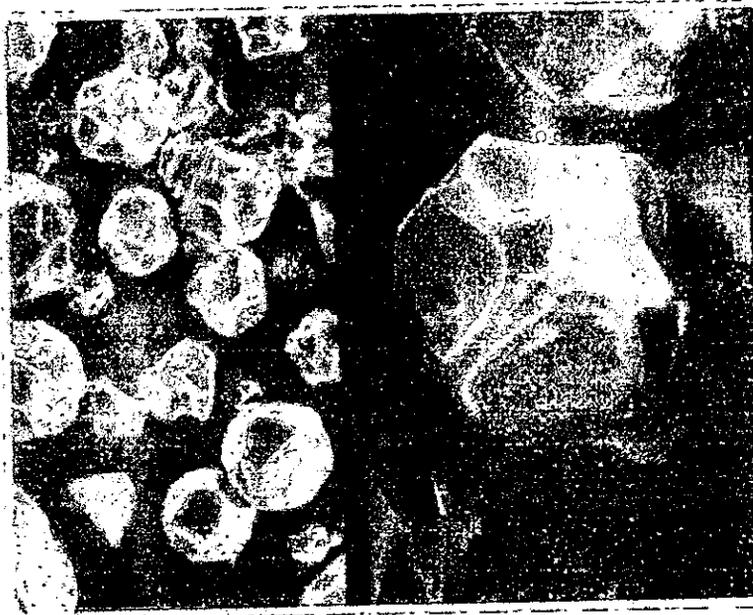
GM100 pH4, rel 2:1



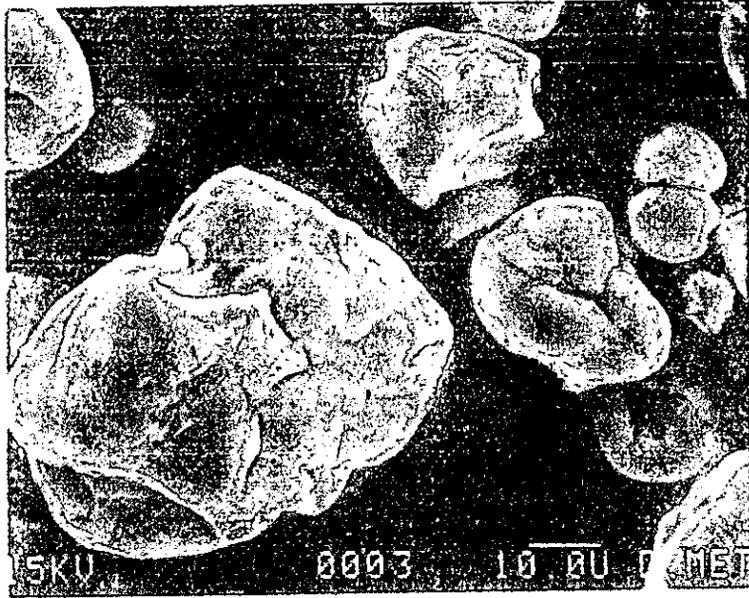
GM100 pH4, rel 2:1



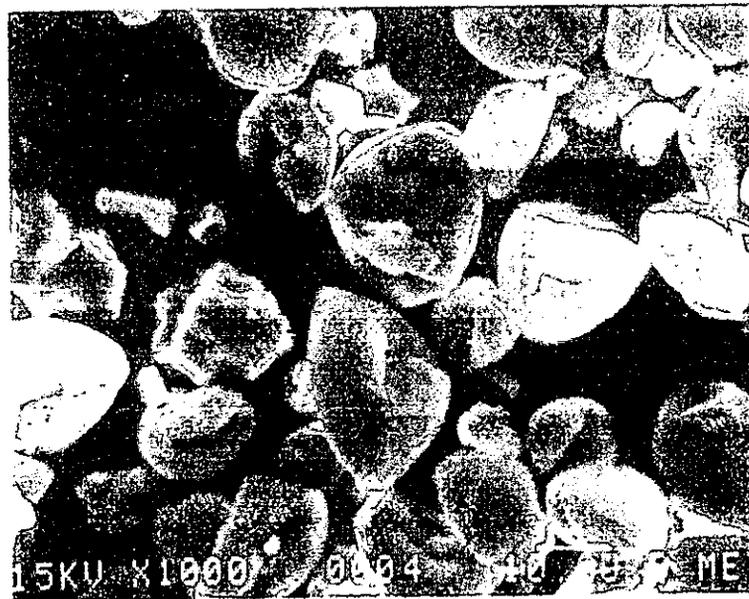
GM100 pH8, rel 2:1



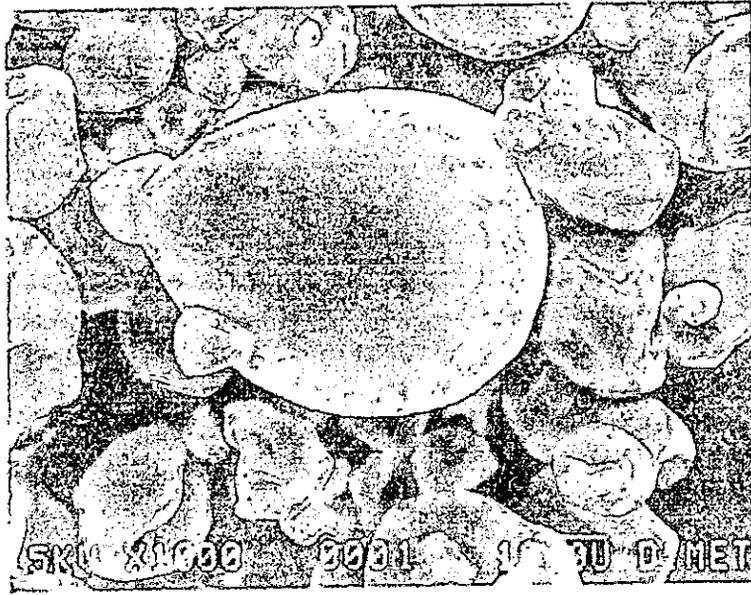
GM100 pH8, rel 3:1



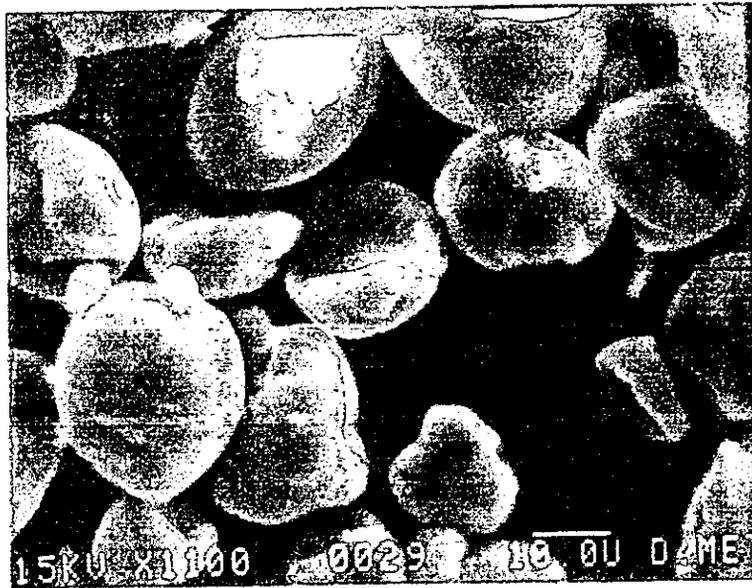
MD100 pH4, rel 2:1



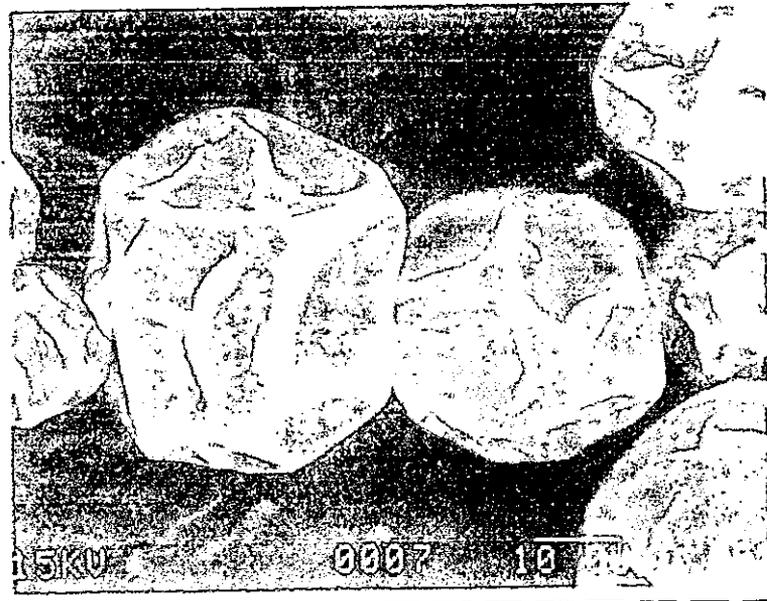
MD100 pH4, rel 3:1



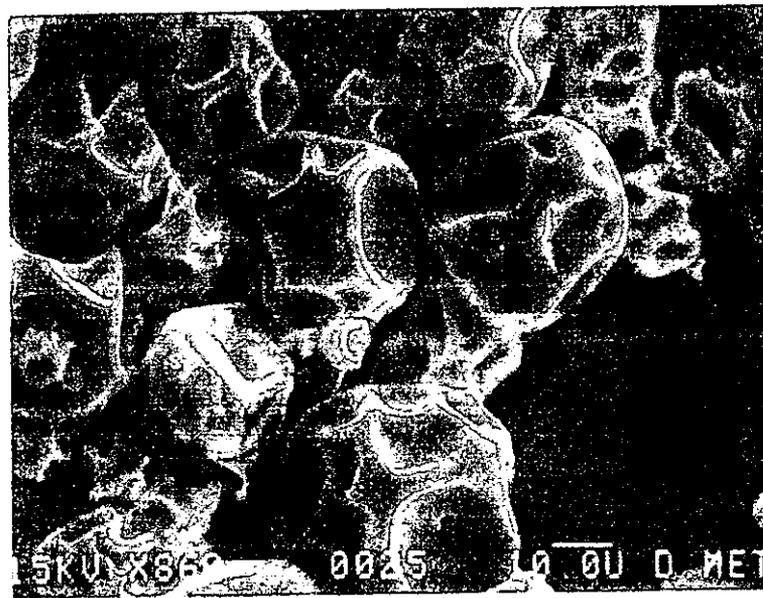
MD100 pH8, rel 2:1



MD100 pH8, rel 3:1



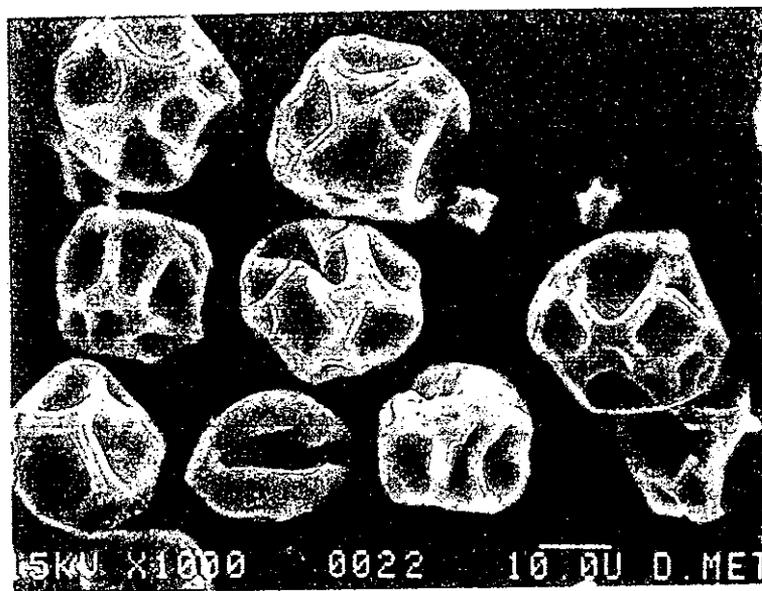
GA50-GM50 pH4, 2:1



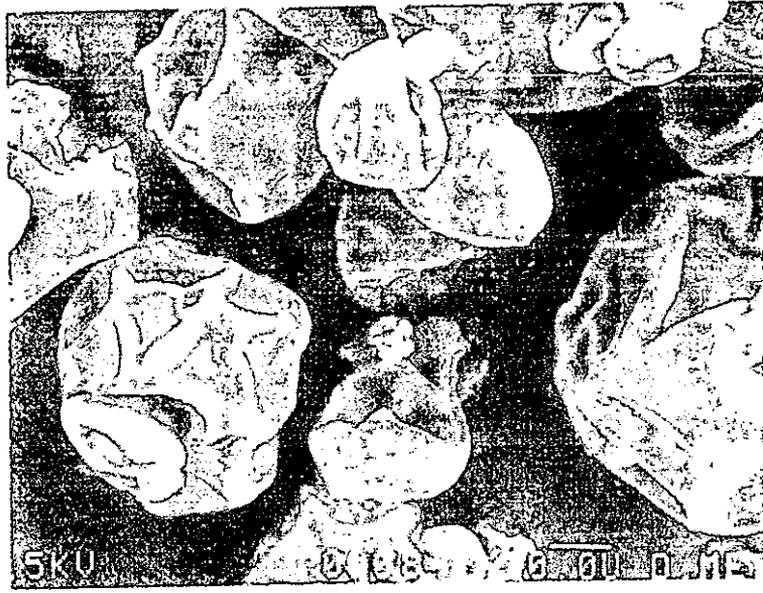
GA50-GM50 pH4, 3:1



GA50-GM50 pH8, rel 2:1



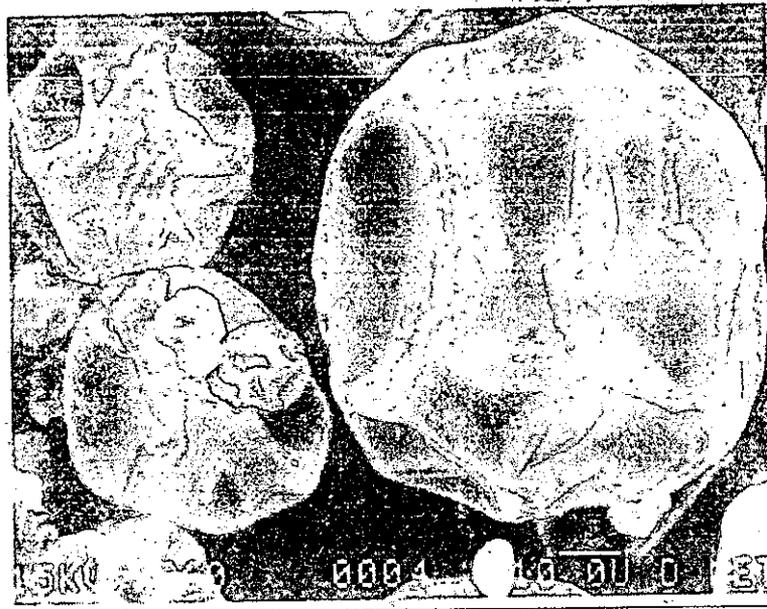
GA50-GM50 pH8, rel 3:1



GA50-MD50 pH4, rel 2:1



GA50-MD50 pH4, rel 3:1



GA50-MD50 pH8, rel 2:1



GA50-MD50 pH8, rel 3:1



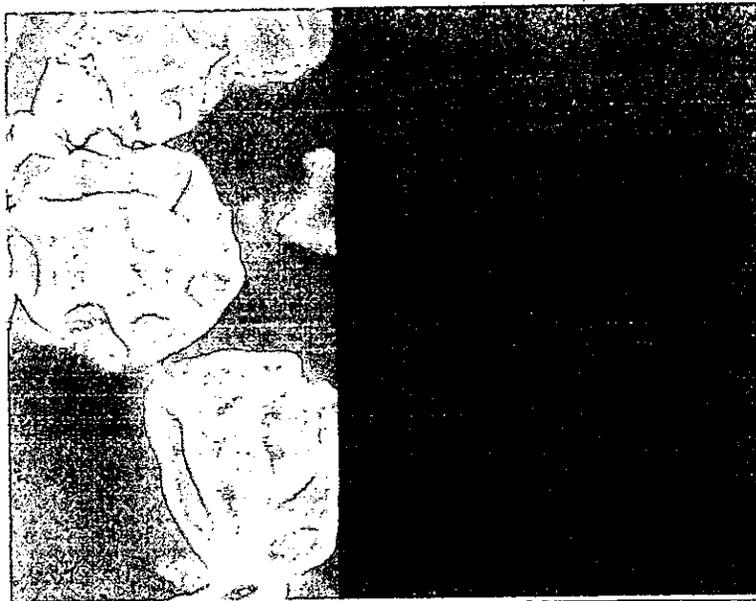
GM50-MD50 pH4, rel 2:1



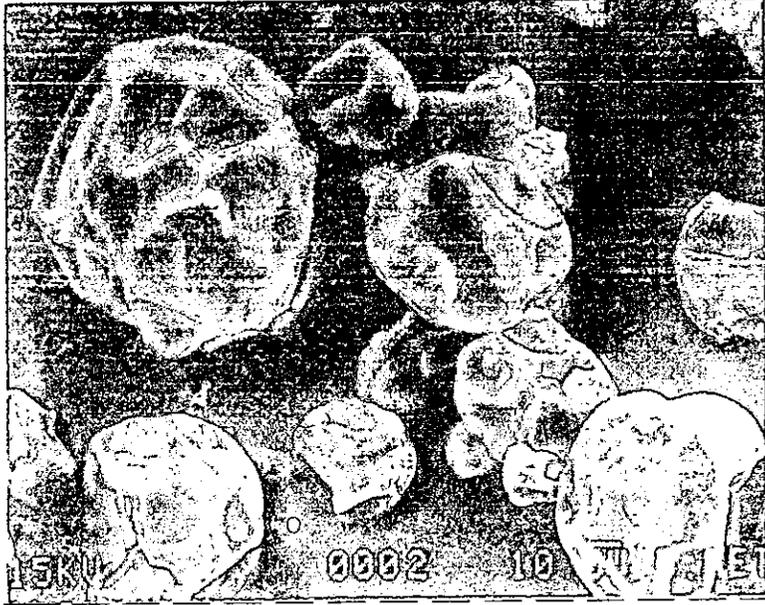
GM50-MD50 pH4, rel 3:1



GM50-MD50 pH8, rel 2:1



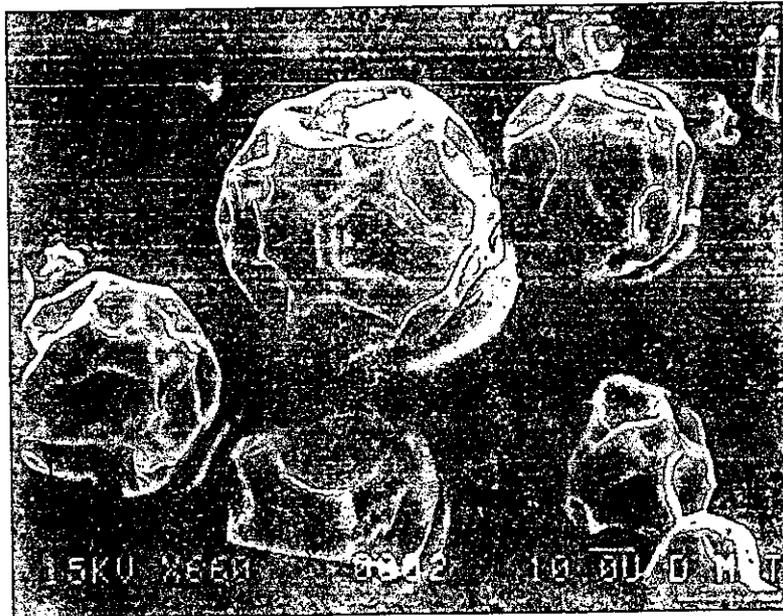
GM50-MD50 pH8, rel 3:1



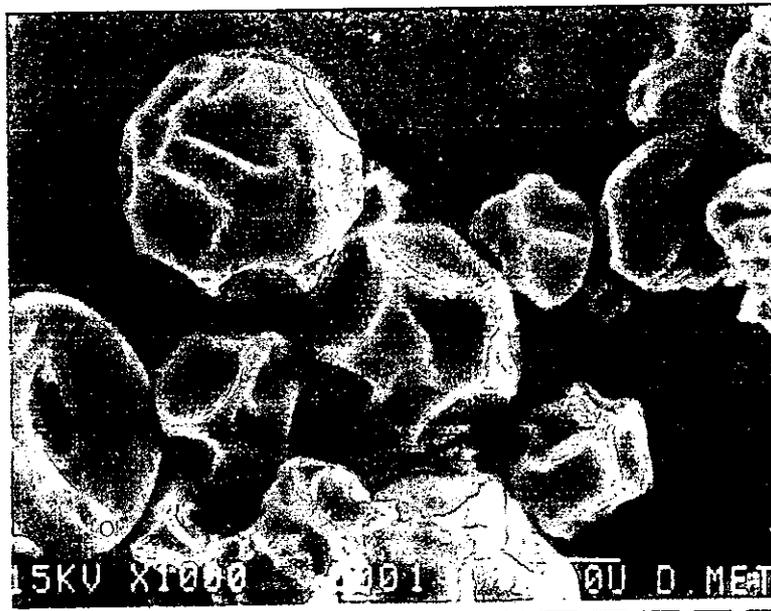
GA33-GM33-MD33 pH4, rel 2:1



GA33-GM33-MD33 pH4, rel 3:1



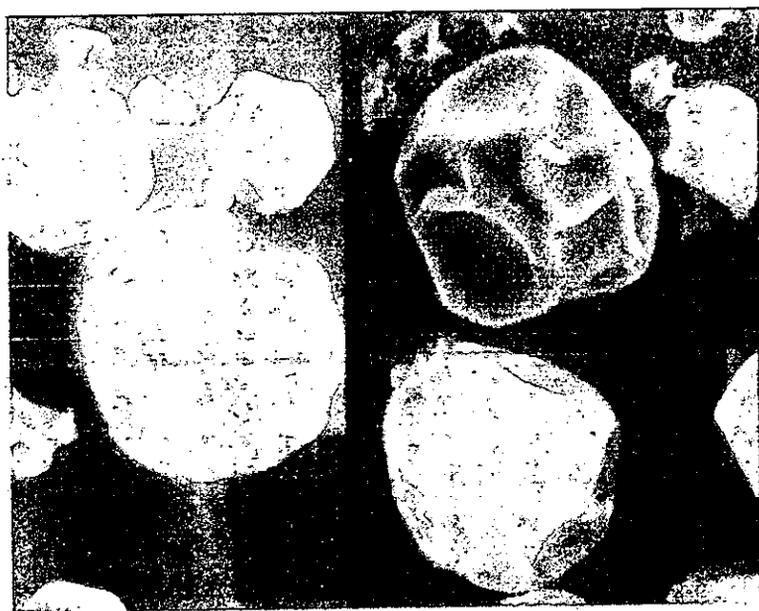
GA33-GM33-MD33 pH8,rel 2:1



GA33-GM33-MD33 pH8,rel 3:1



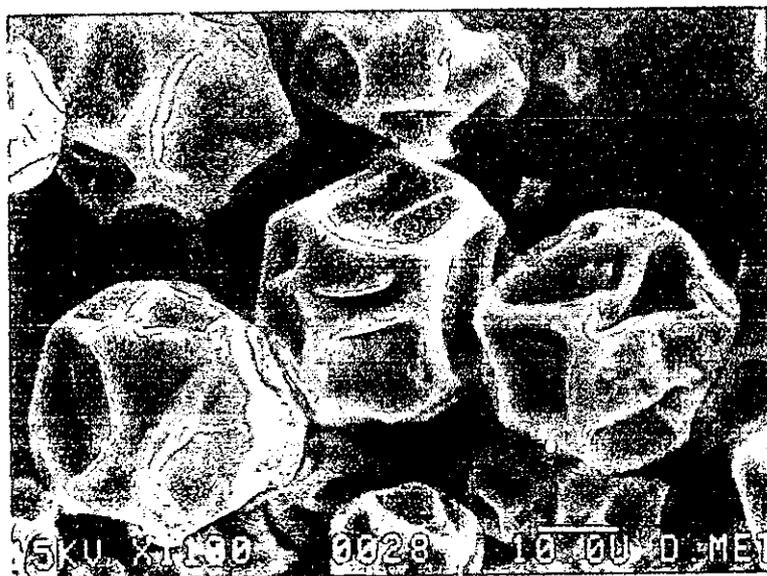
GA66-GM17-MD17 pH4, rel 2:1



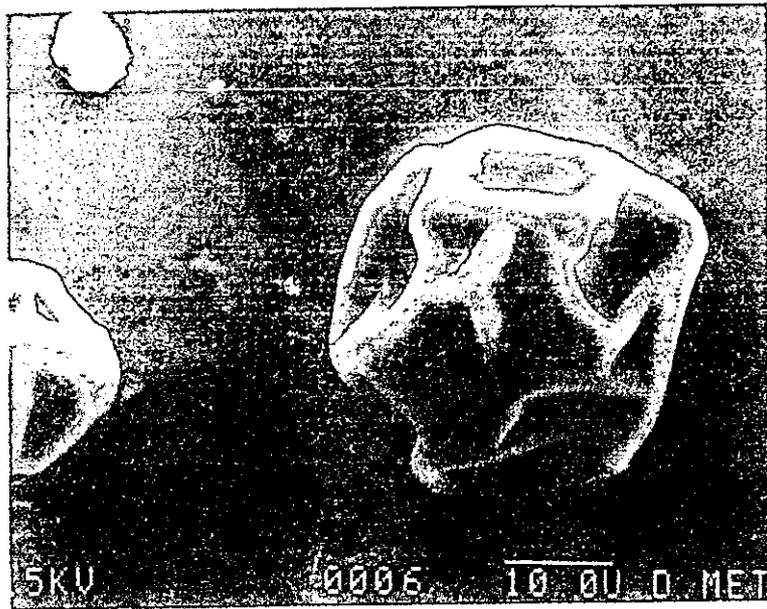
GA66-GM17-MD17 pH4, rel 3:1



GA66-GM17-MD17 pH8, rel 2:1



GA66-GM17-MD17 pH8, rel 3:1



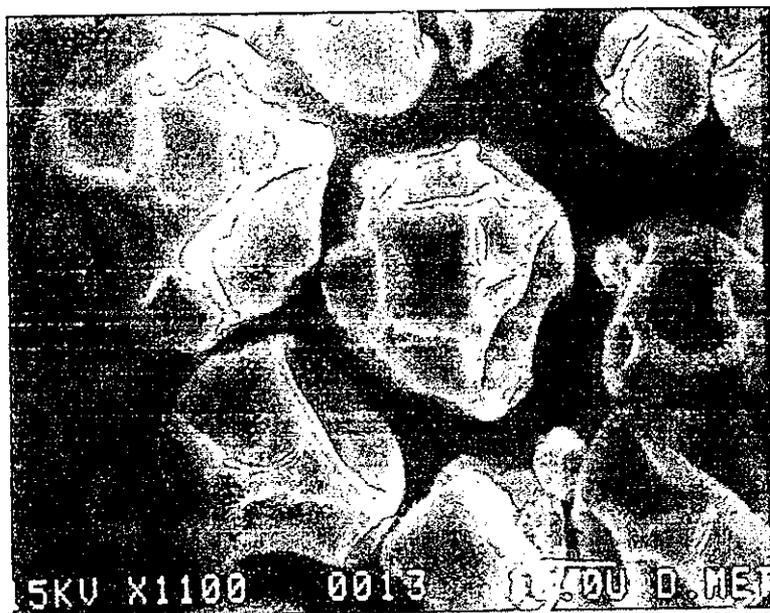
GA17-GM66-MD17 pH4, rel 2:1



GA17-GM66-MD17 pH4 rel 3:1



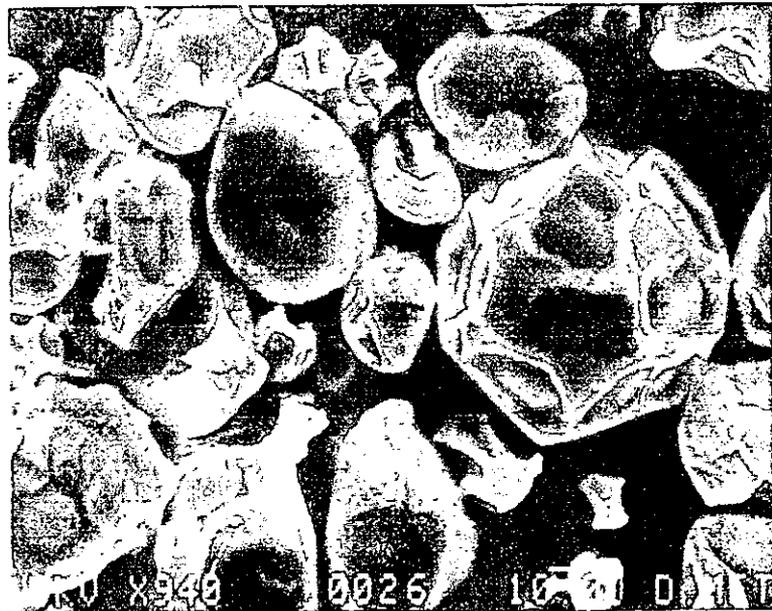
GA17-GM66-MD17 pH8, rel 2:1



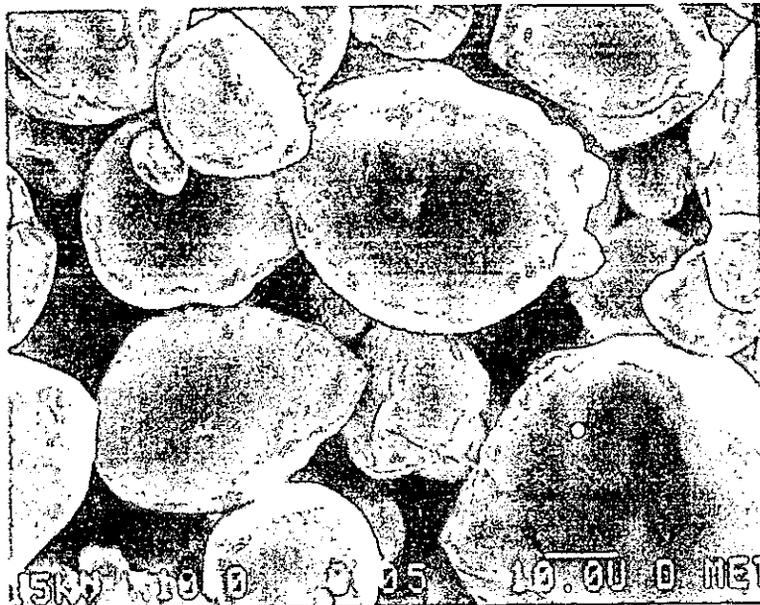
GA17-GM66-MD17 pH8, rel 3:1



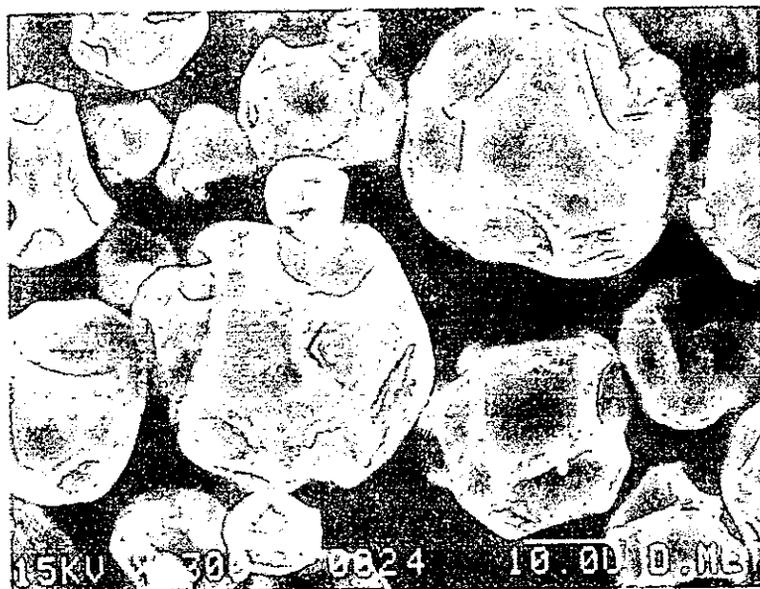
GA17-GM17-MD66 pH4, rel 2:1



GA17-GM17-MD66 pH4, rel 3:1



GA17-GM17-MD66 pH8, rel 2:1



GA17-GM17-MD66 pH8, rel 3:1

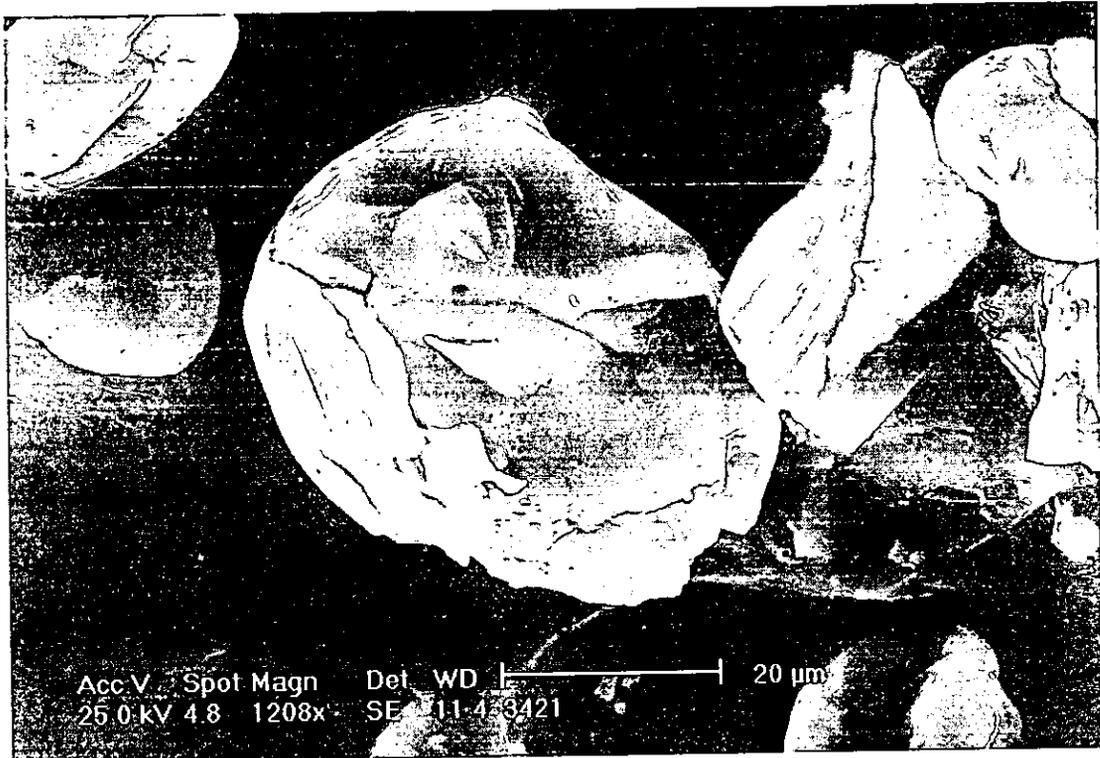
APÉNDICE 2
Micrografías de la estructura interna de las microcápsulas



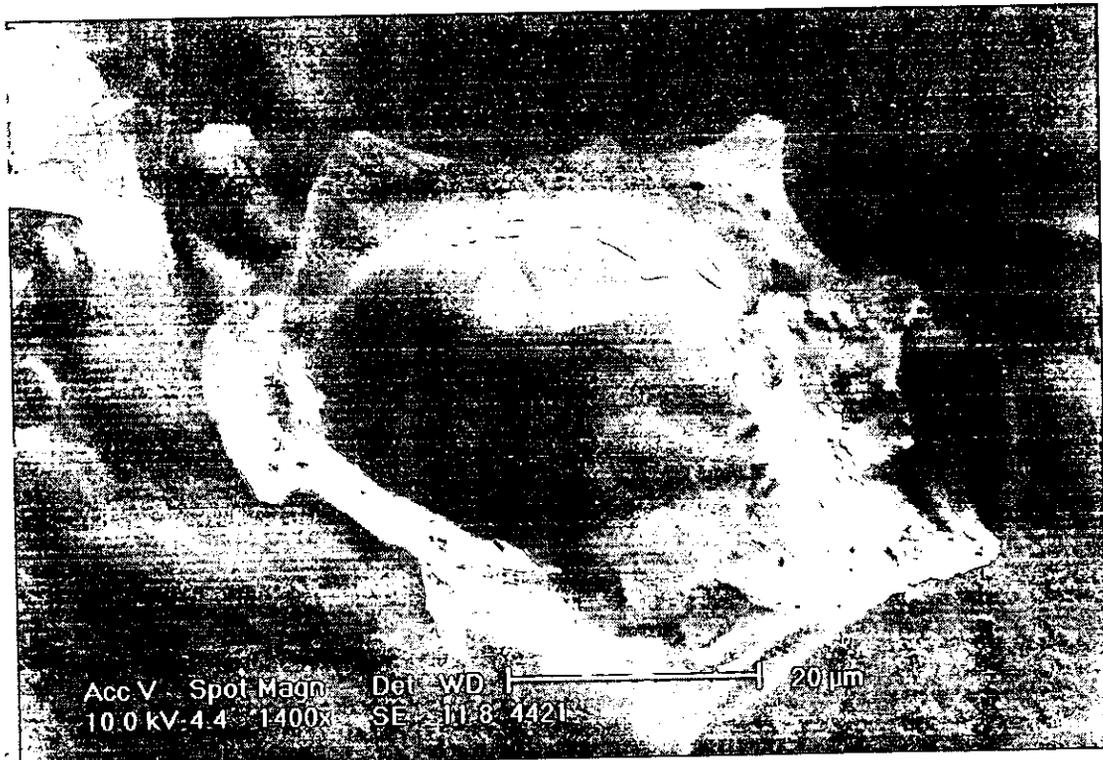
GA100 pH 4, relación 2:1



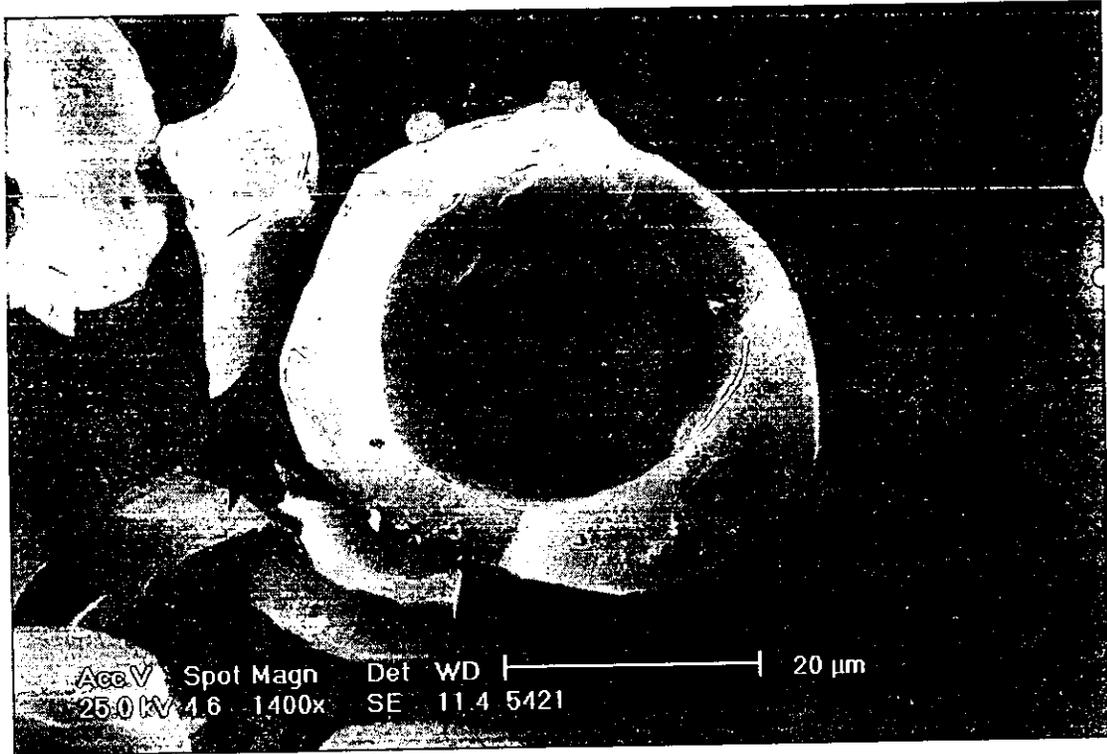
GM100 pH 4, relación 2:1



MD100 pH 4, relación 2:1



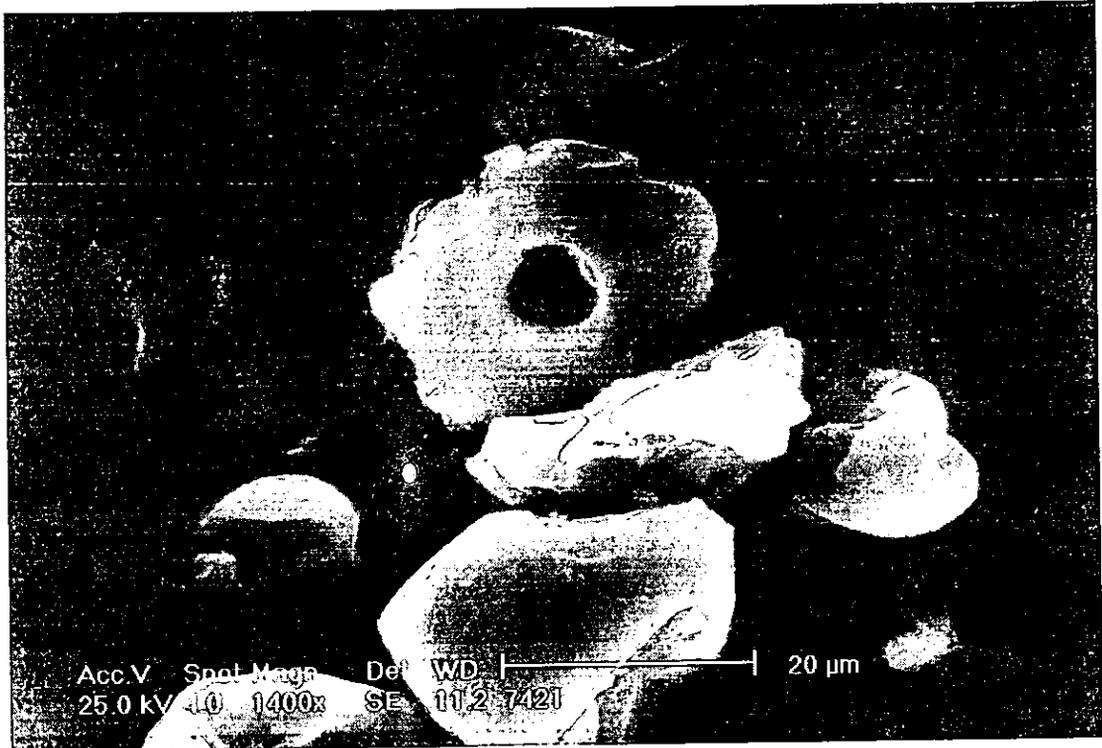
GA50-GM50 pH 4, relación 2:1



GA50-MD50 pH 4, relación 2:1



GM50-MD50 pH 4, relación 2:1



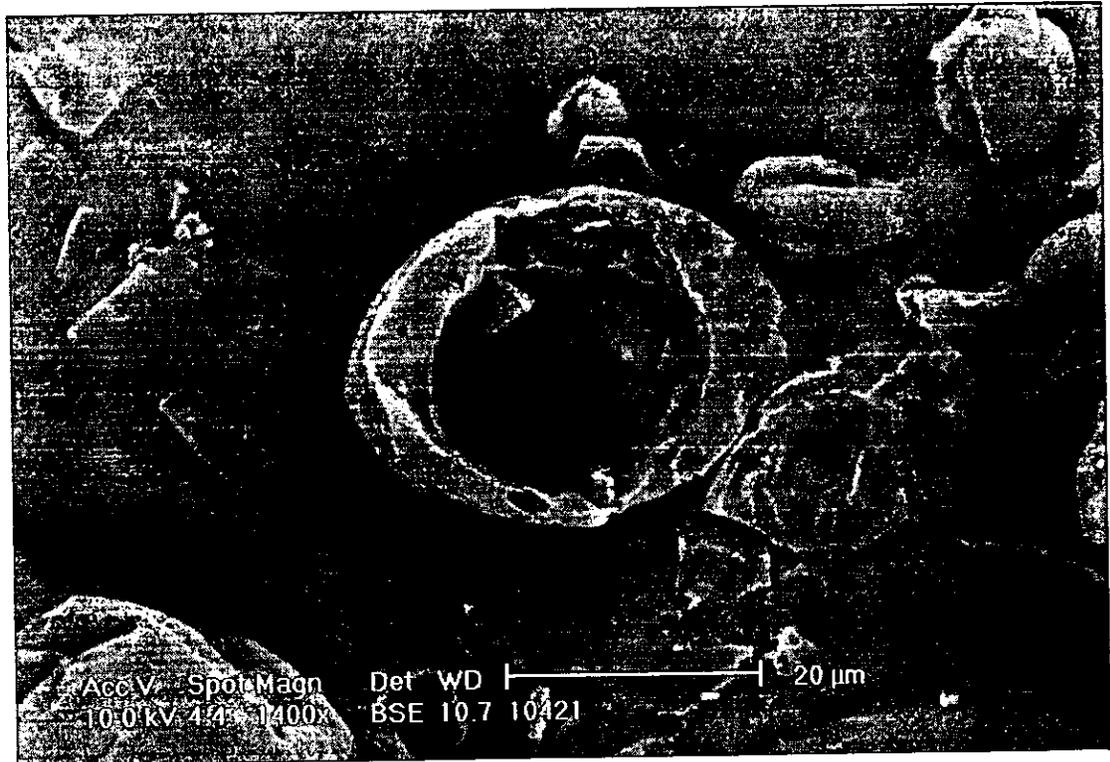
GA33-GM33-MD33 pH 4, relación 2:1



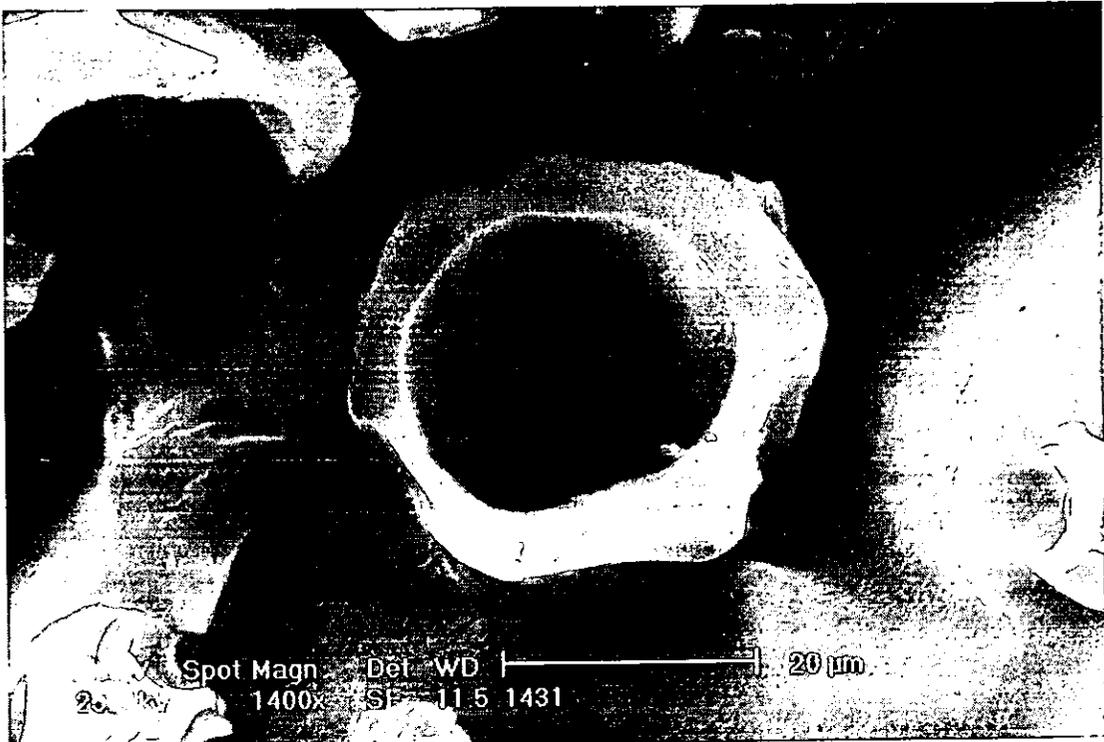
GA66-GM17-MD17 pH 4, relación 2:1



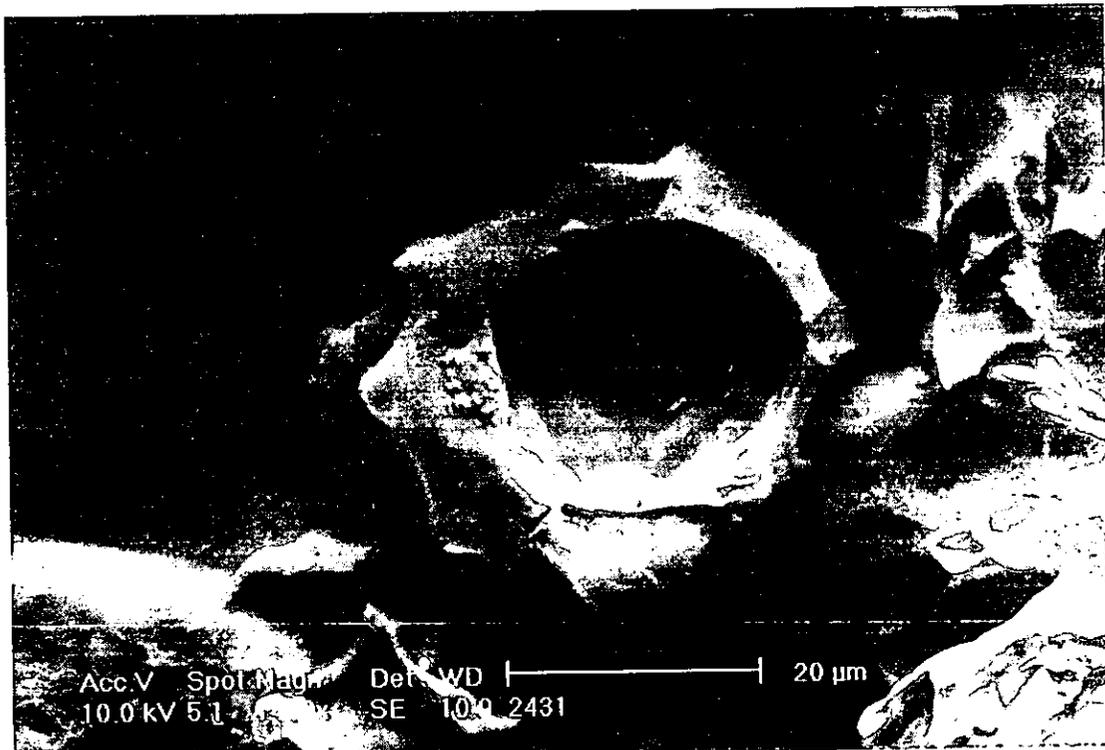
GA17-GM66-MD17 pH 4, relación 2:1



GA17-GM17-MD66 pH 4, relación 2:1



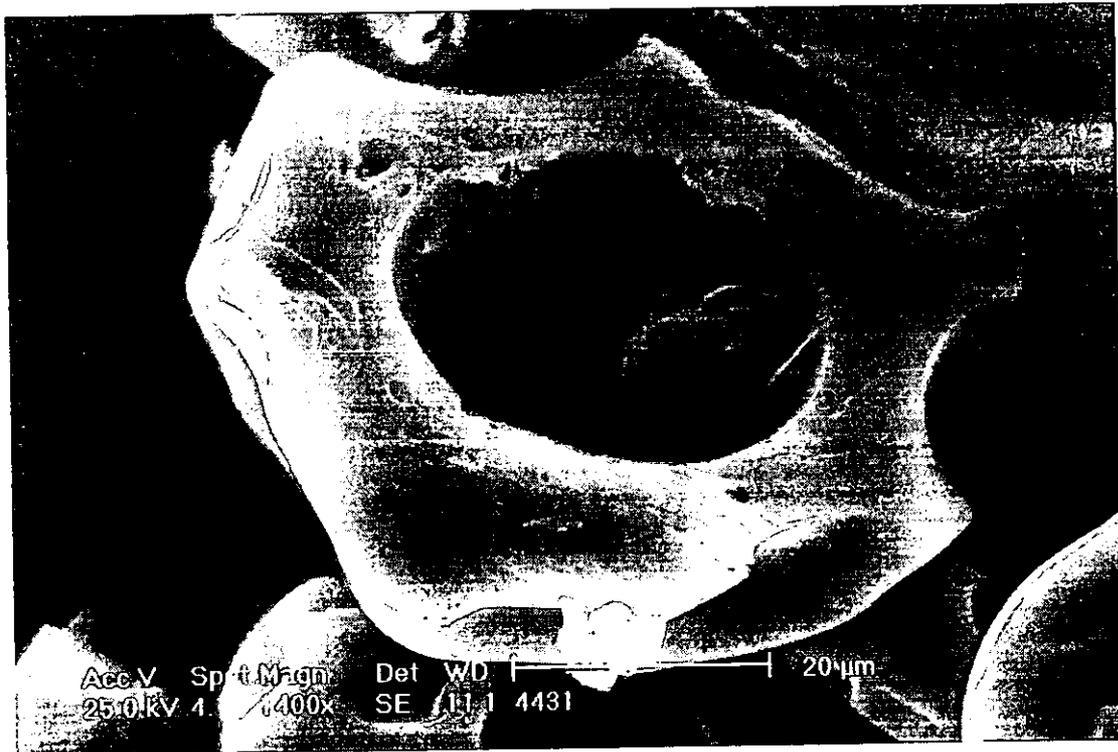
GA100 pH 4, relación 3:1



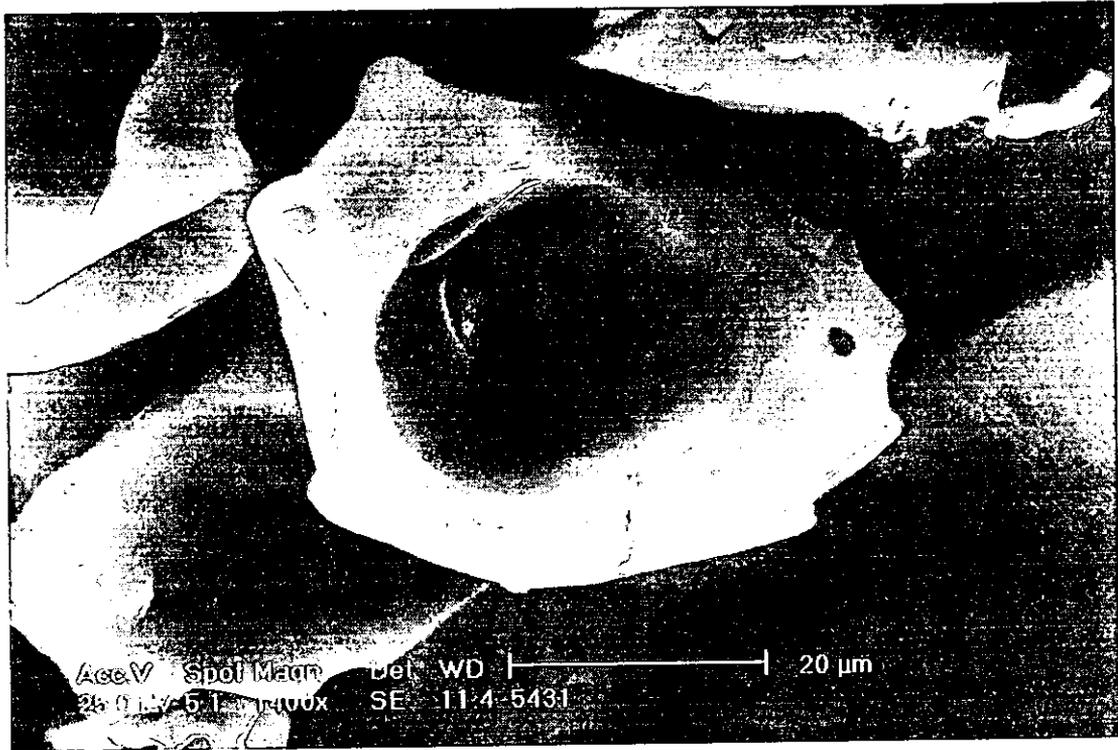
GM100 pH 4, relación 3:1



MD100 pH 4, relación 3:1



GA50-GM50 pH 4, relación 3:1



GA50-MD50 pH 4, relación 3:1



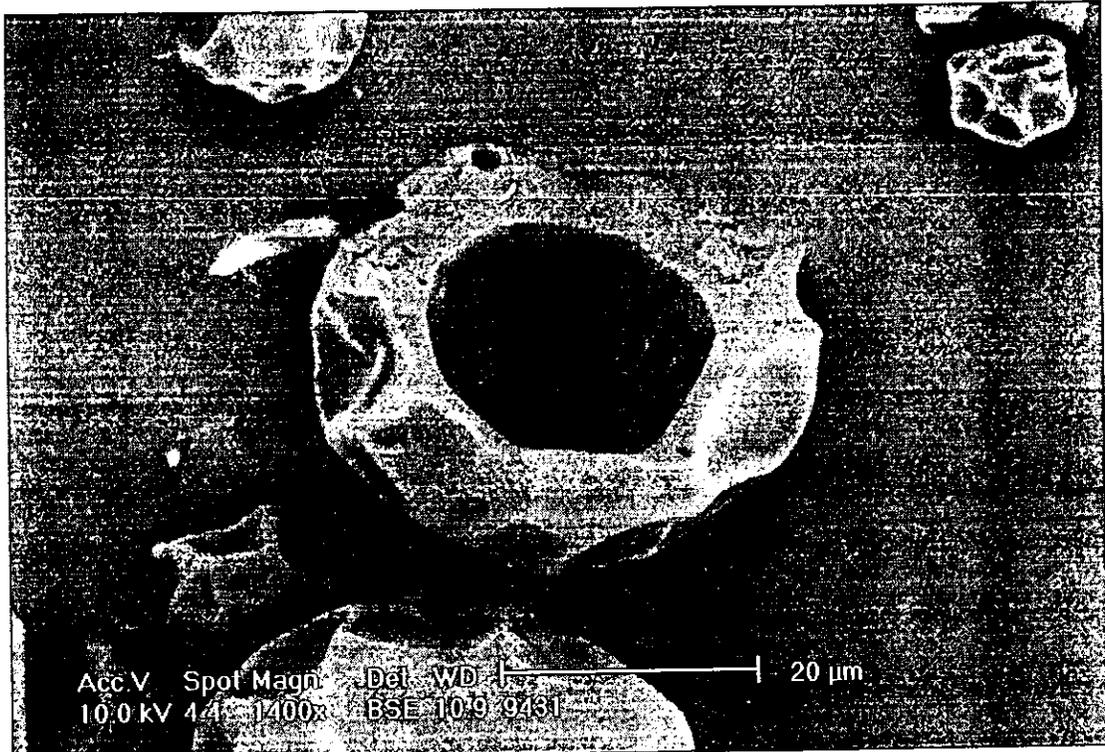
GM50-MD50 pH 4, relación 3:1



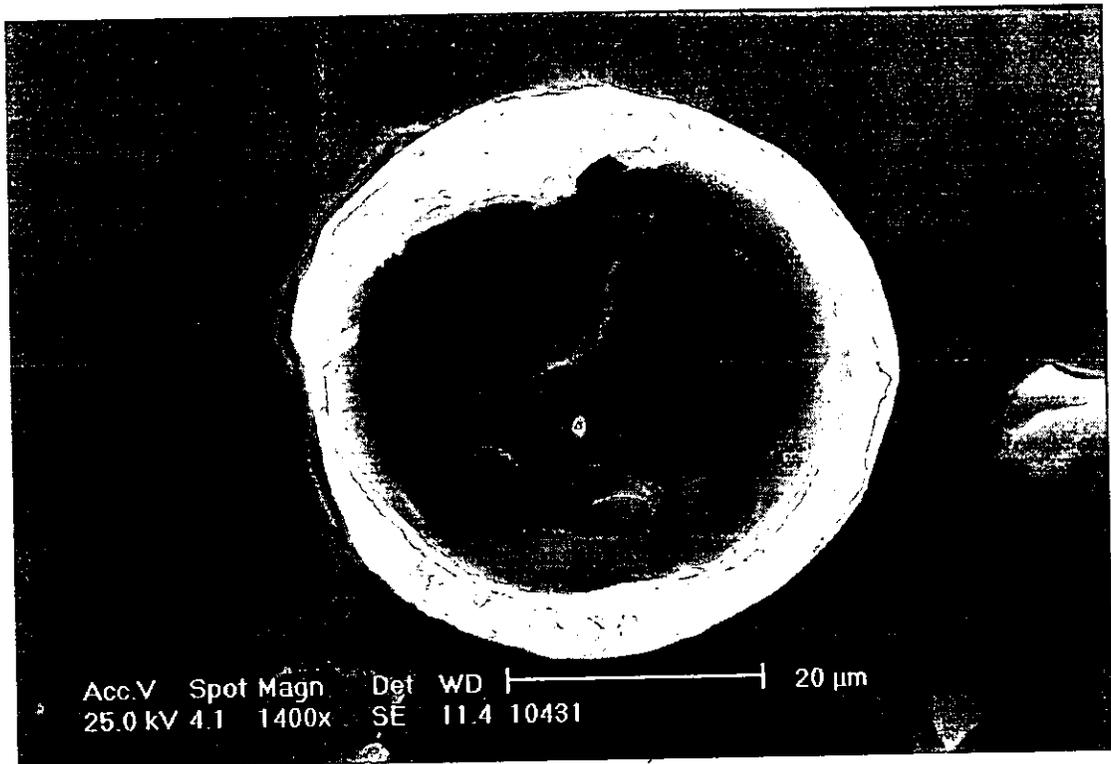
GA33-GM33-MD33 pH 4, relación 3:1



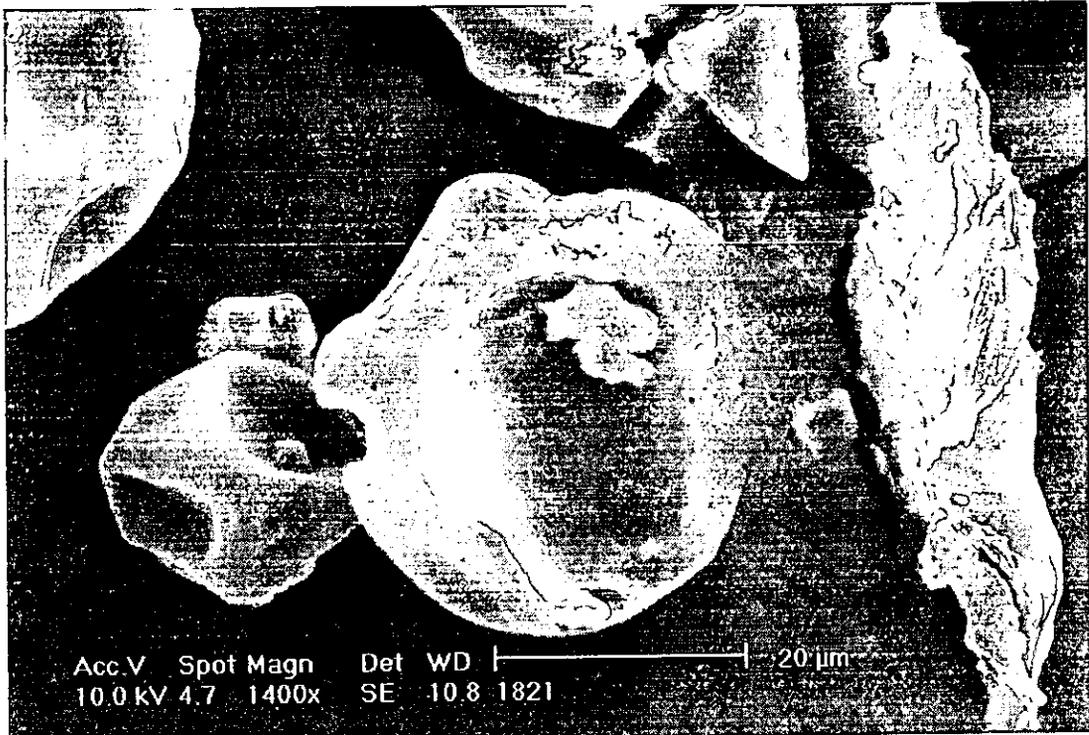
GA66-GM17-MD17 pH 4, relación 3:1



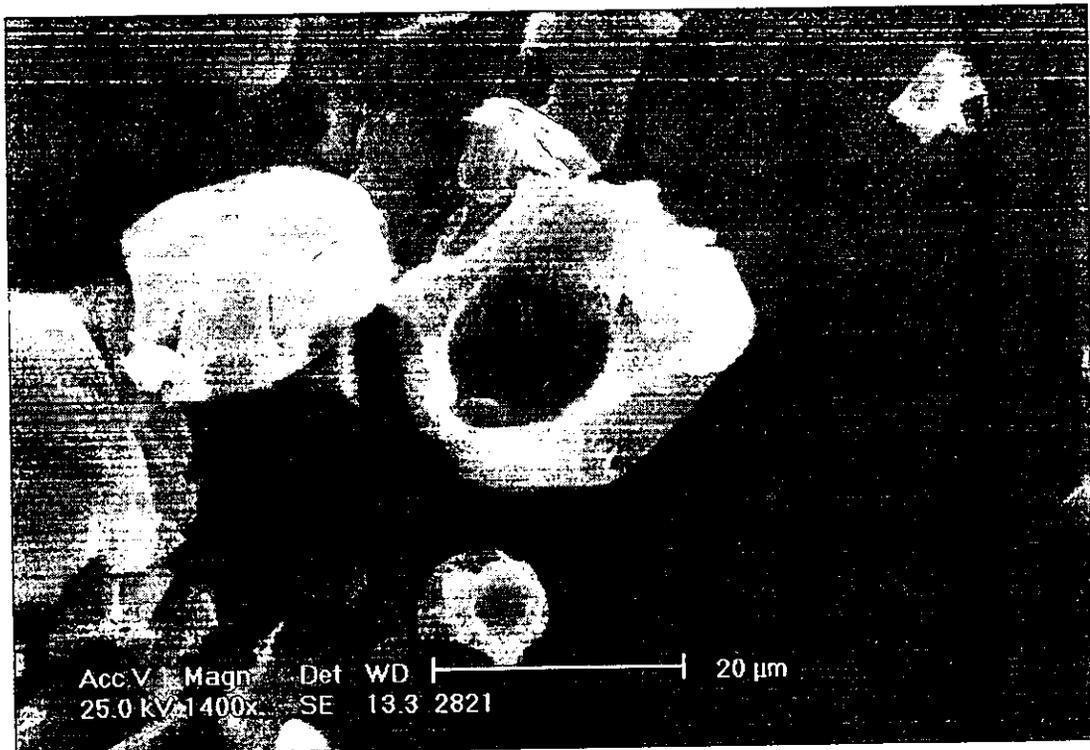
GA17-GM66-MD17 pH 4, relación 3:1



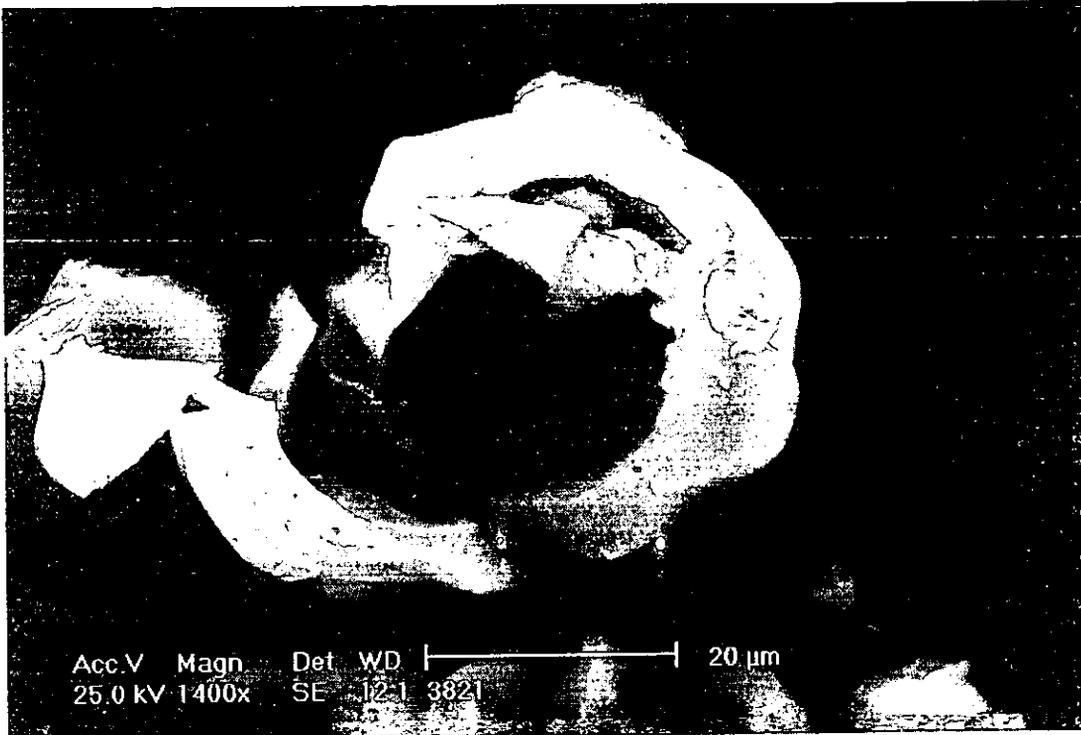
GA17-GM17-MD66 pH 4, relación 3:1



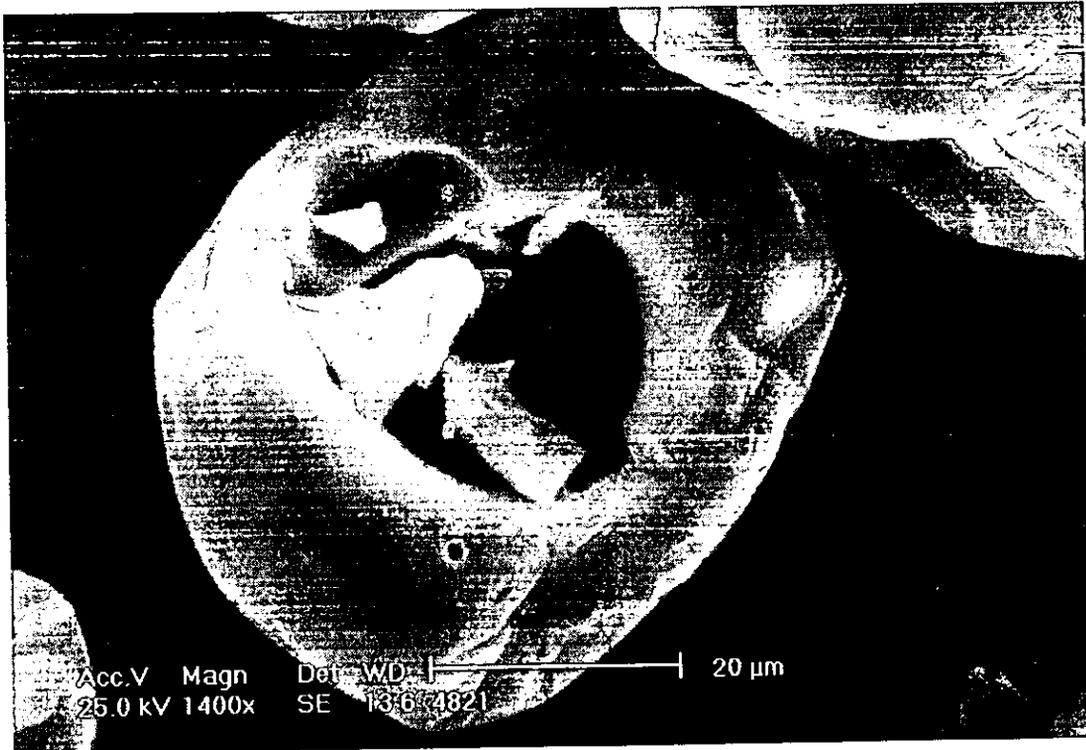
GA100 pH8, relación 2:1



GM100 pH 8, relación 2:1



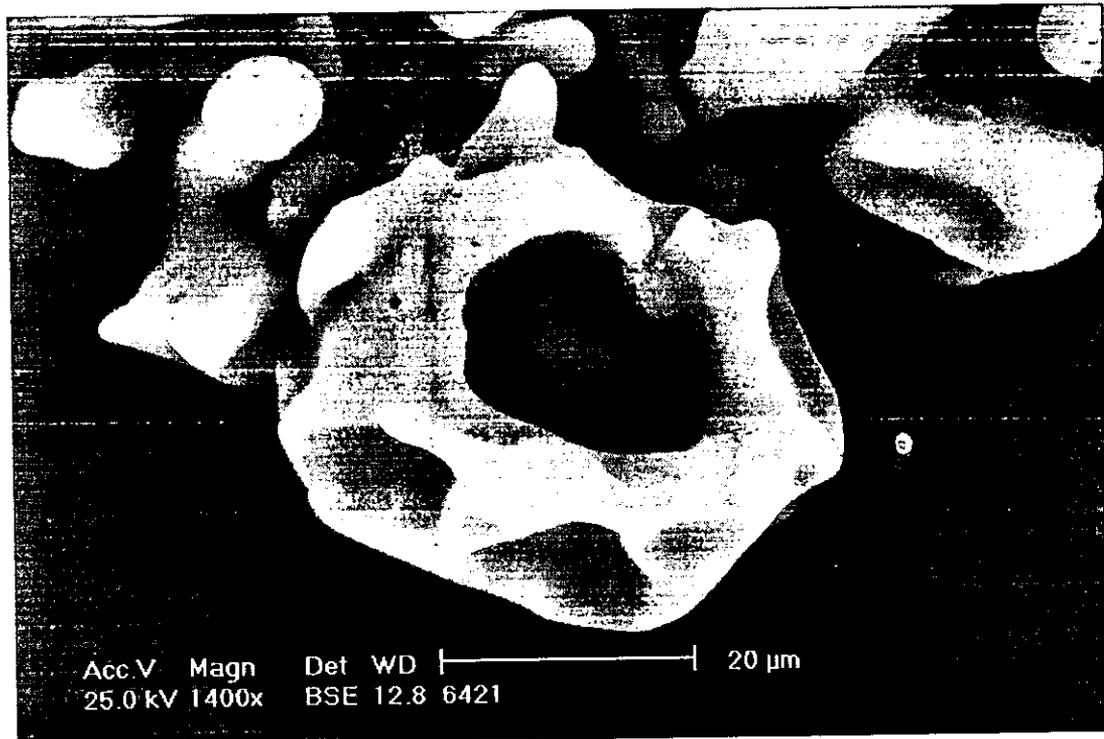
MD100 pH , relación 2:1



GA50-GM50 pH 8, relación 2:1



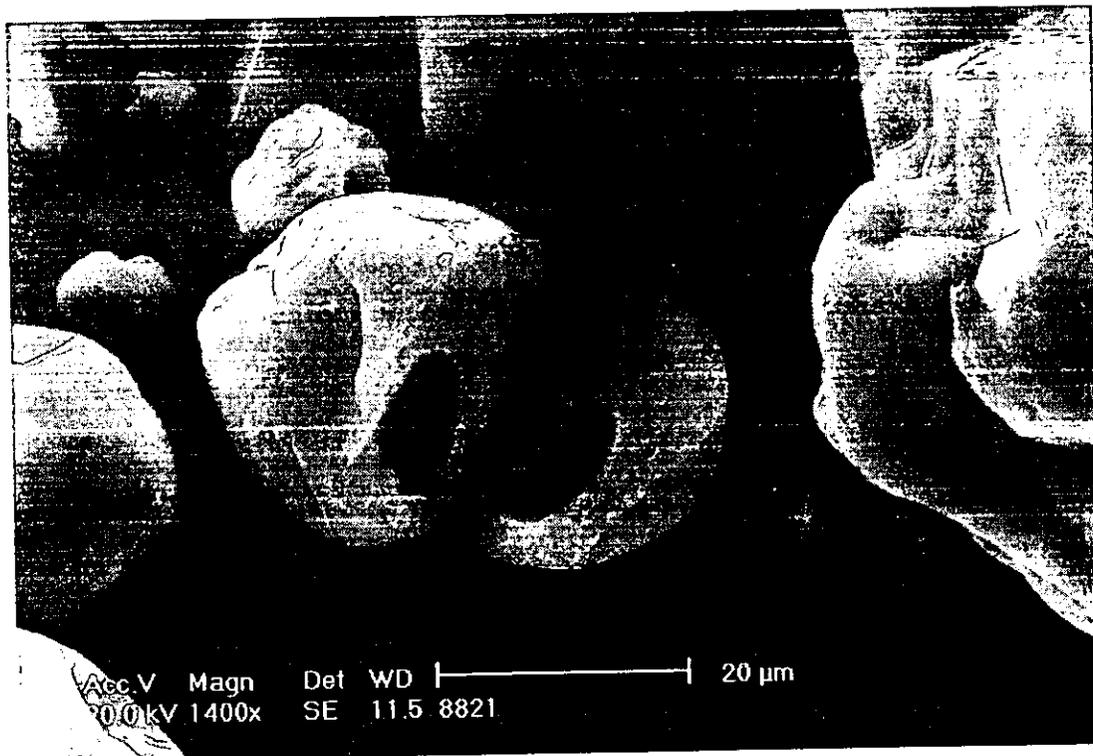
GA50-MD50 pH 8, relación 3:1



GM50-MD50 pH 8, relación 2:1



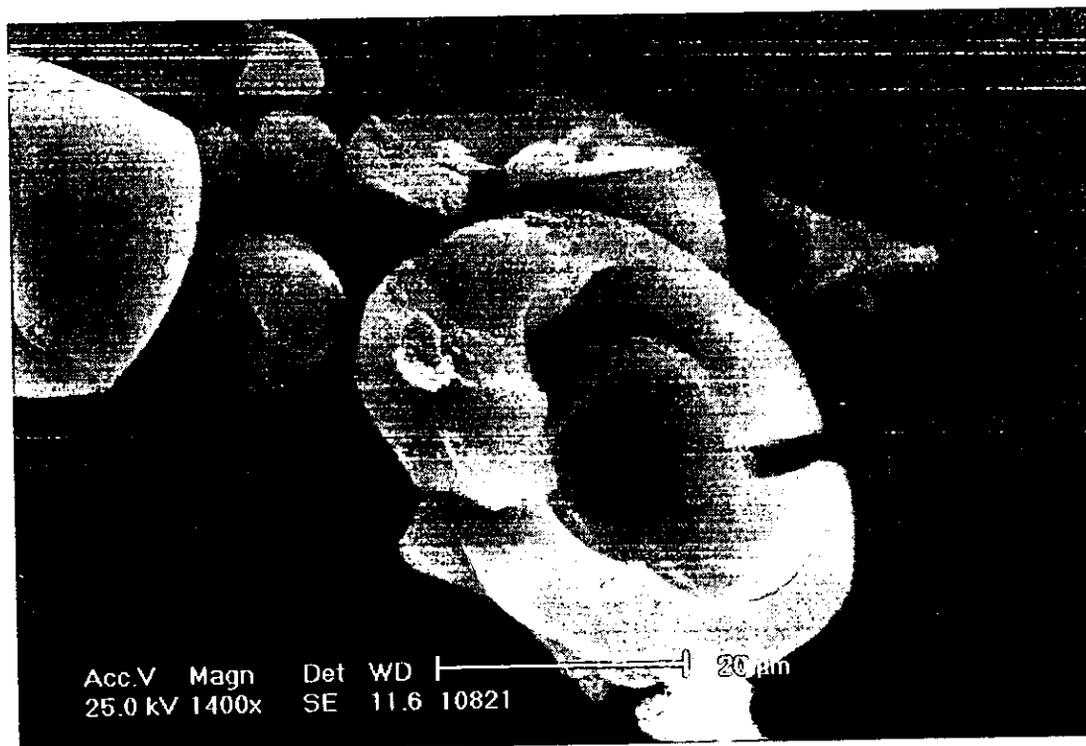
GA33-GM33-MD33 pH 8, relación 2:1



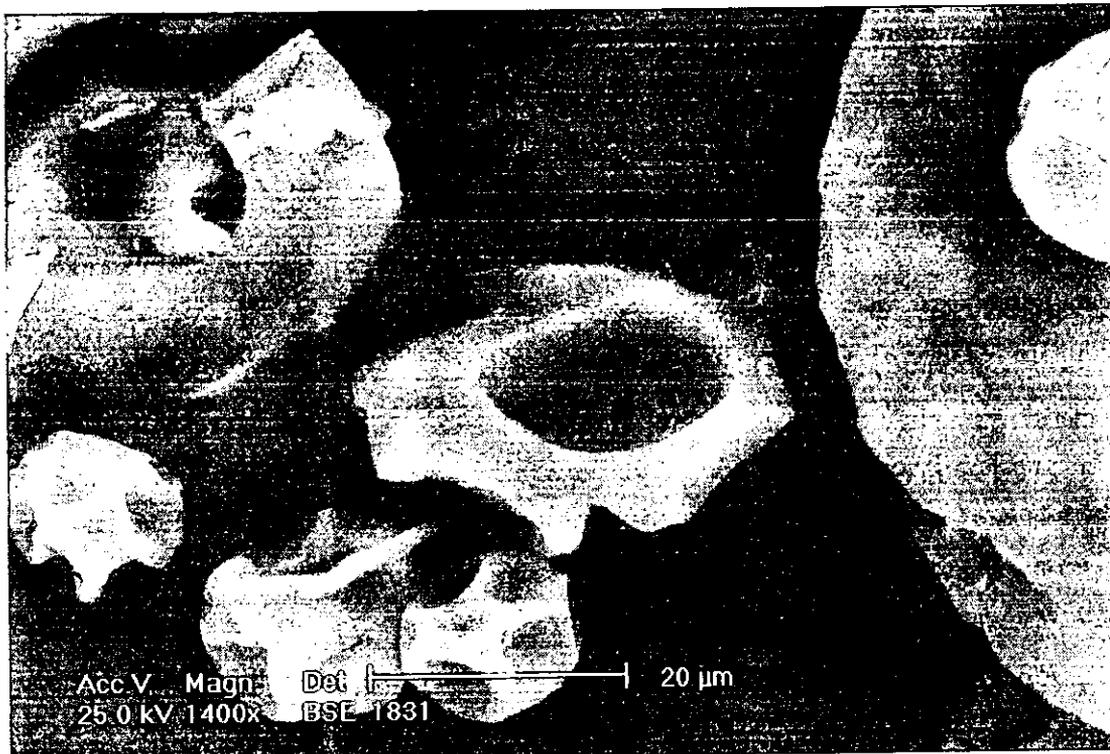
GA66-GM17-MD17 pH 8, relación 2:1



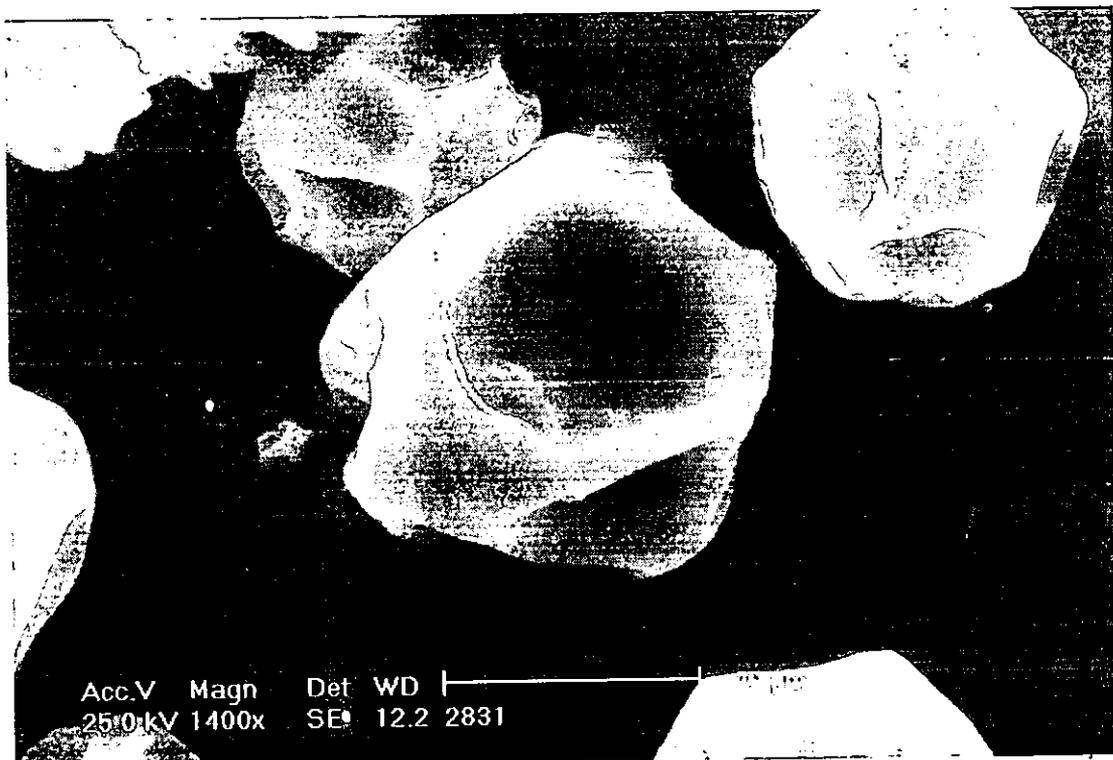
GA17-GM66-MD17 pH 8, relación 2:1



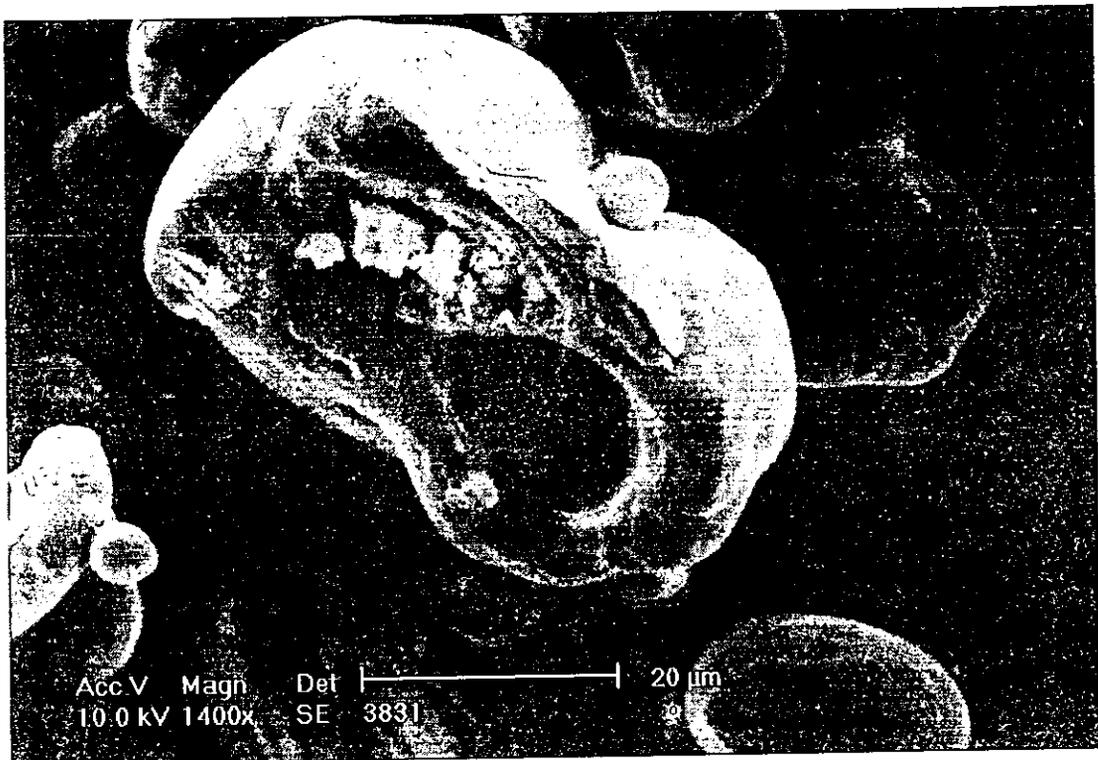
GA17-GM17-MD66 pH 8, relación 2:1



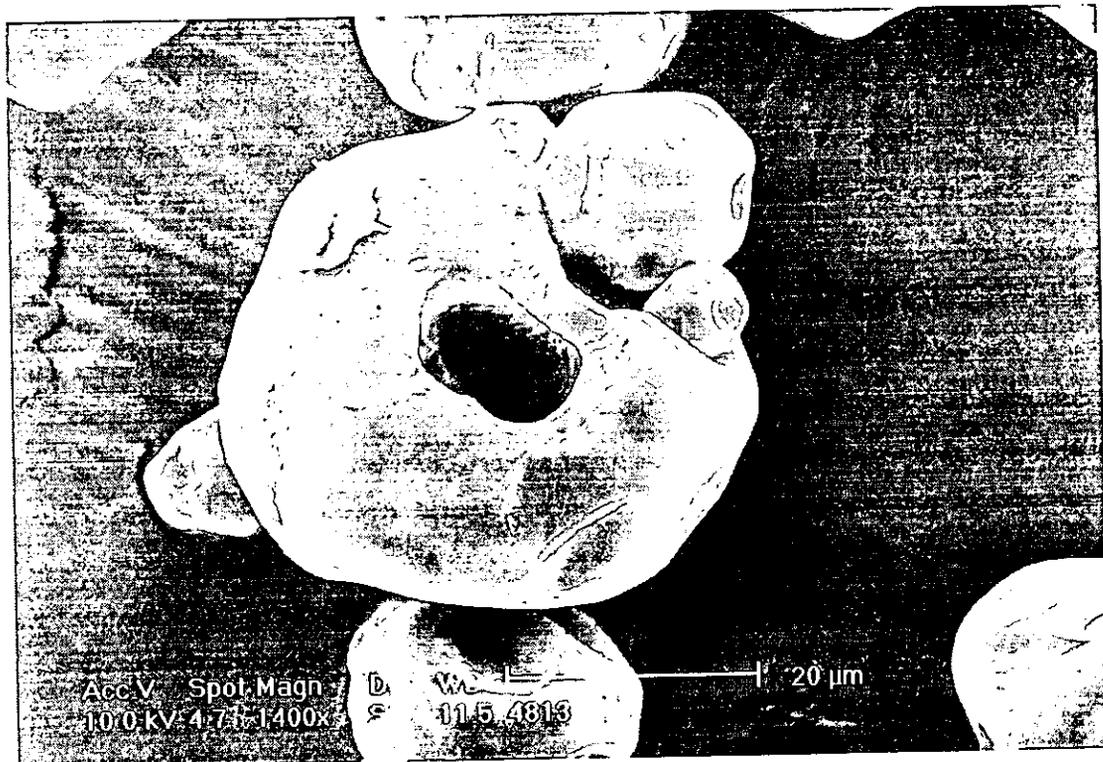
GA100 pH 8, relación 3:1



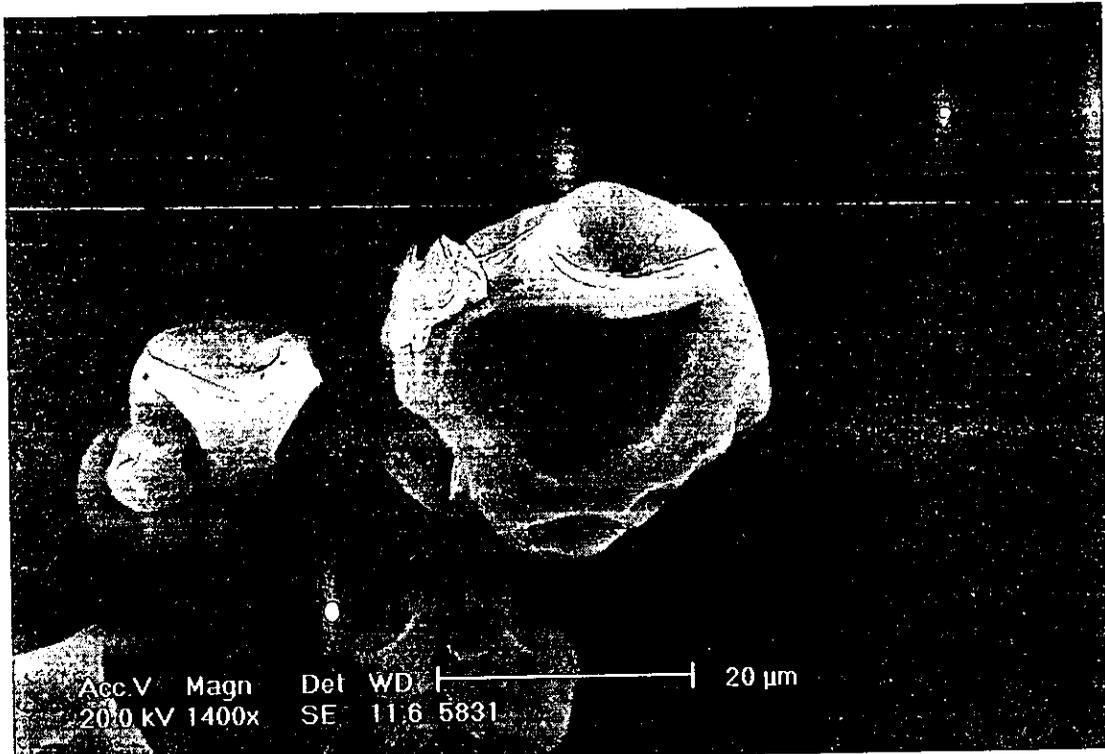
GM100 pH 8, relación 3:1



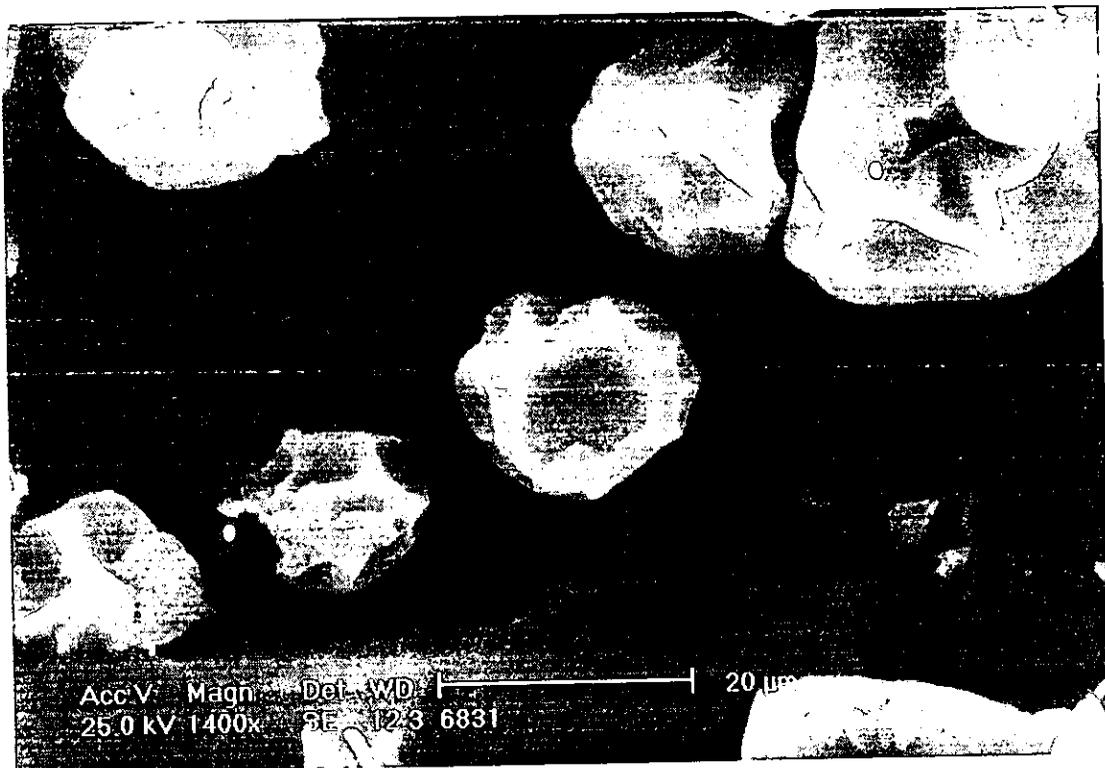
MD100 pH 8, relación 3:1



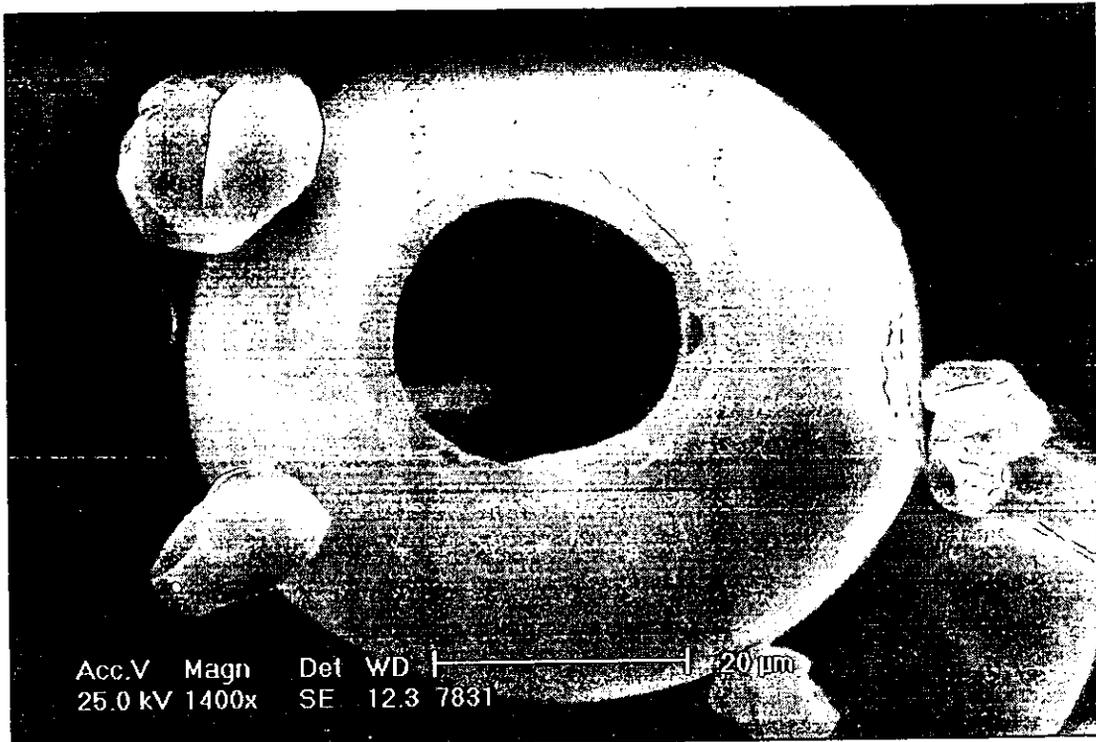
GA50-GM50 pH 8, relación 3:1



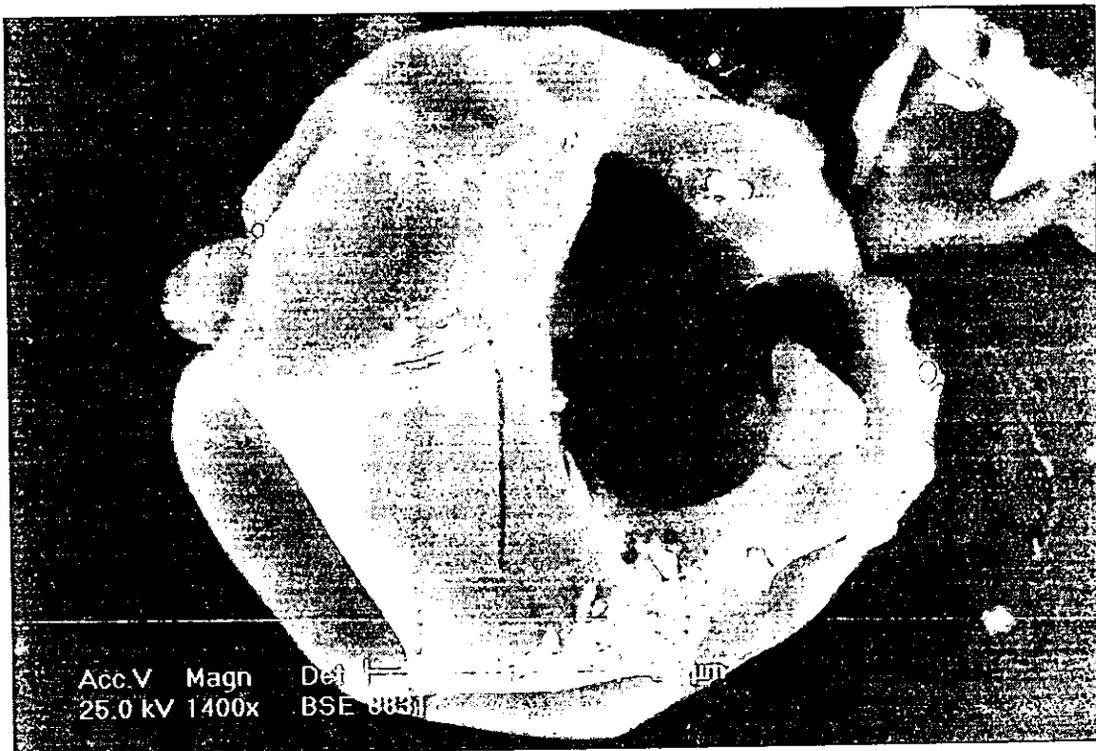
GA50-MD50 pH 8, relación 3:1



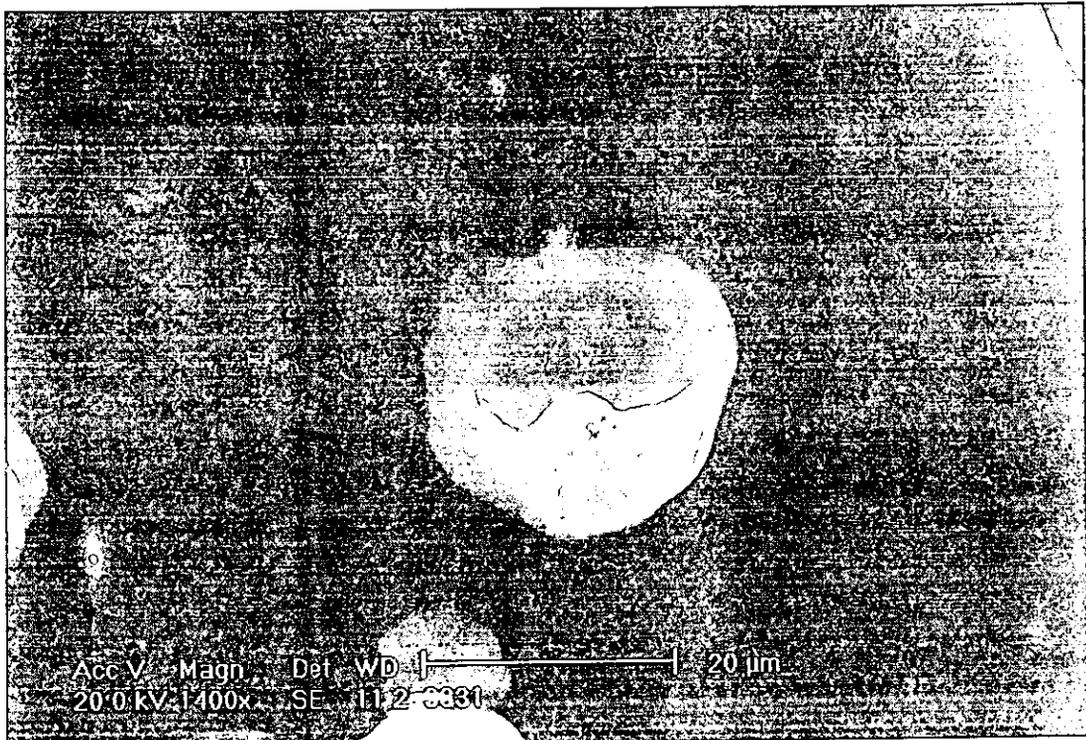
GM50-MD50 pH 8, relación 3:1



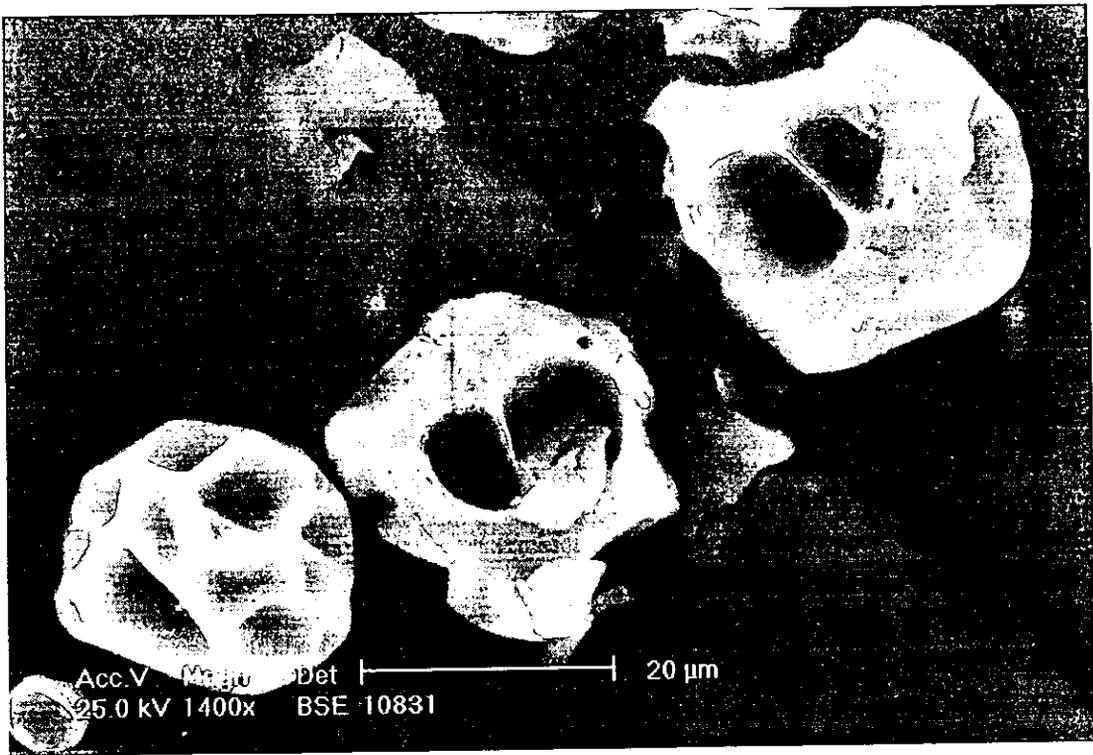
GA33-GM33-MD33 pH 8, relación 3:1



GA66-GM17-MD17 pH 8, relación 3:1

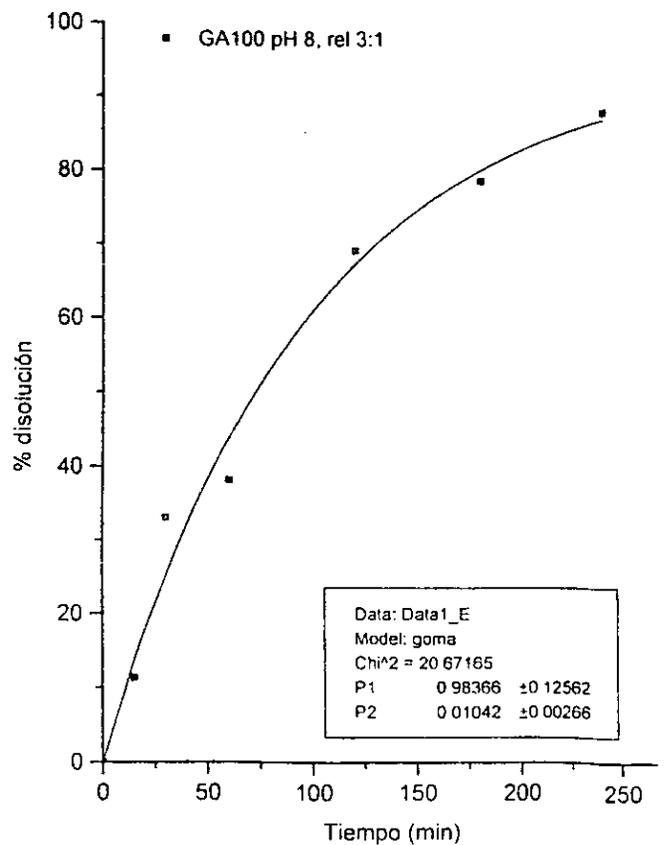
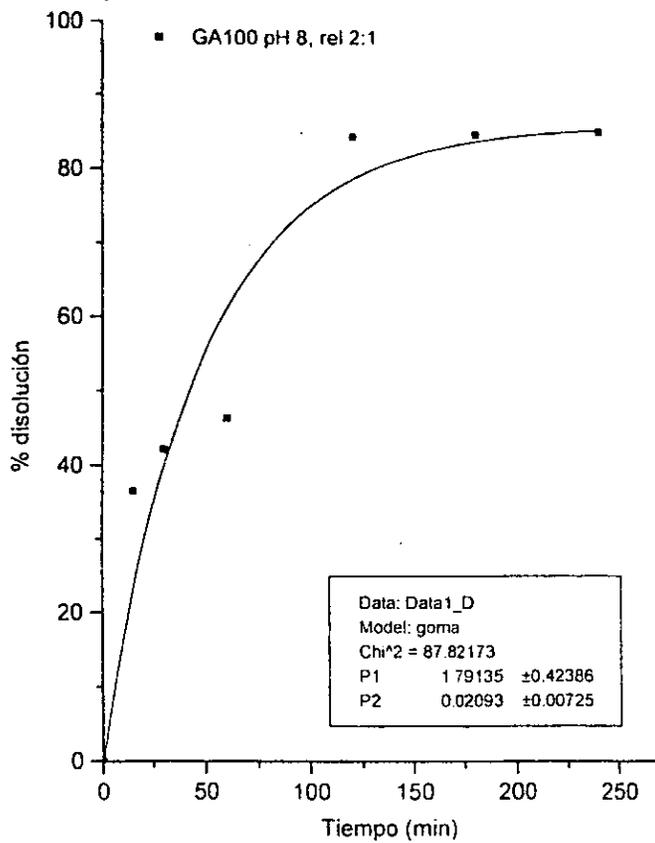
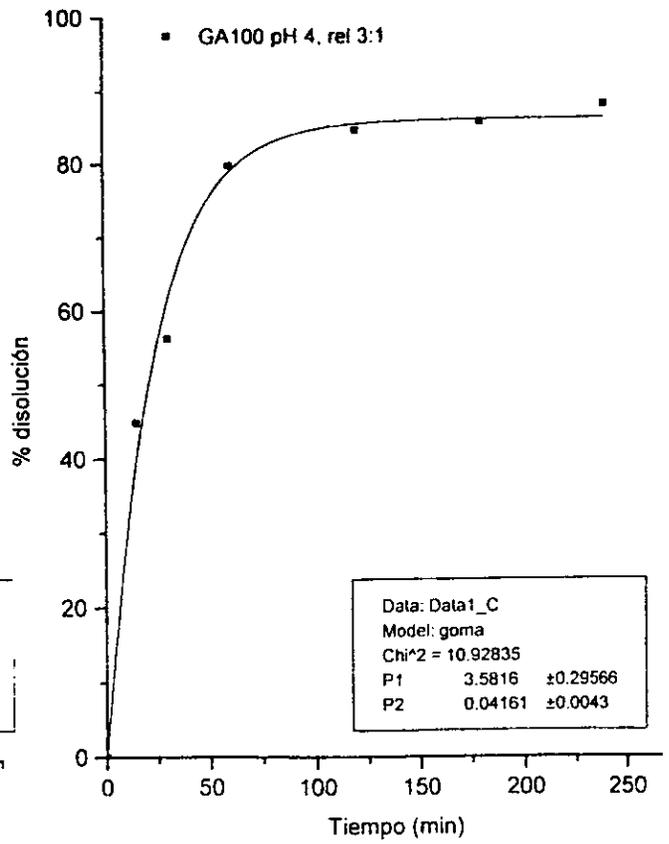
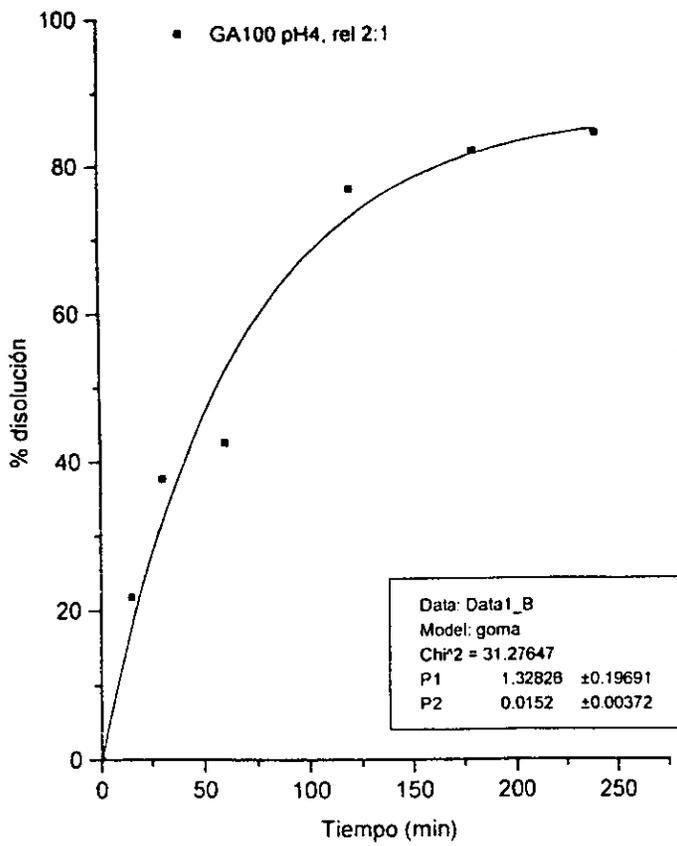


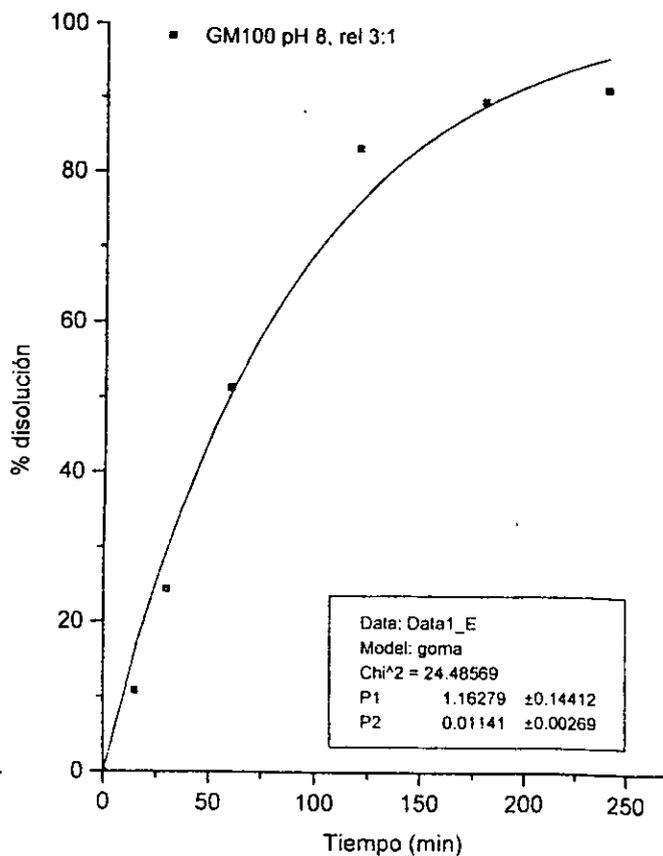
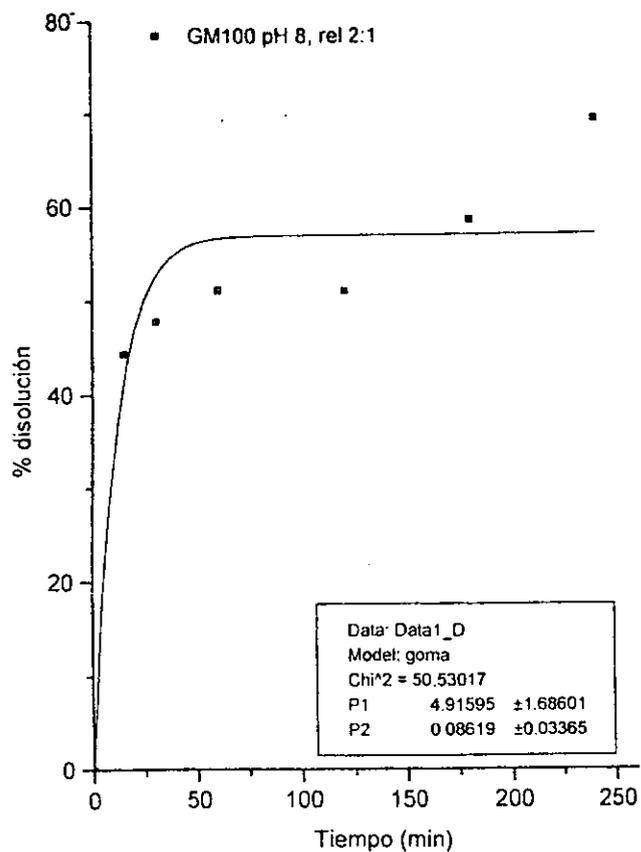
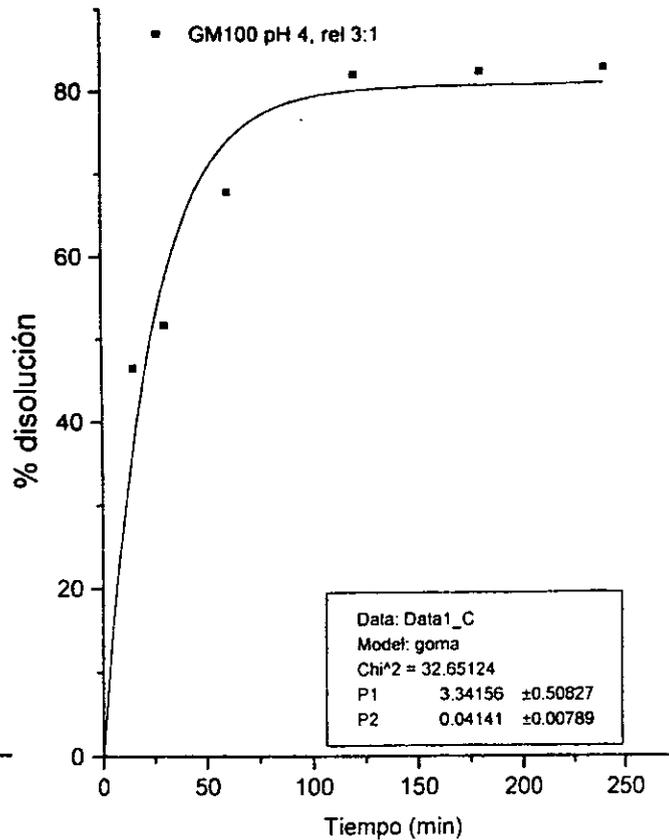
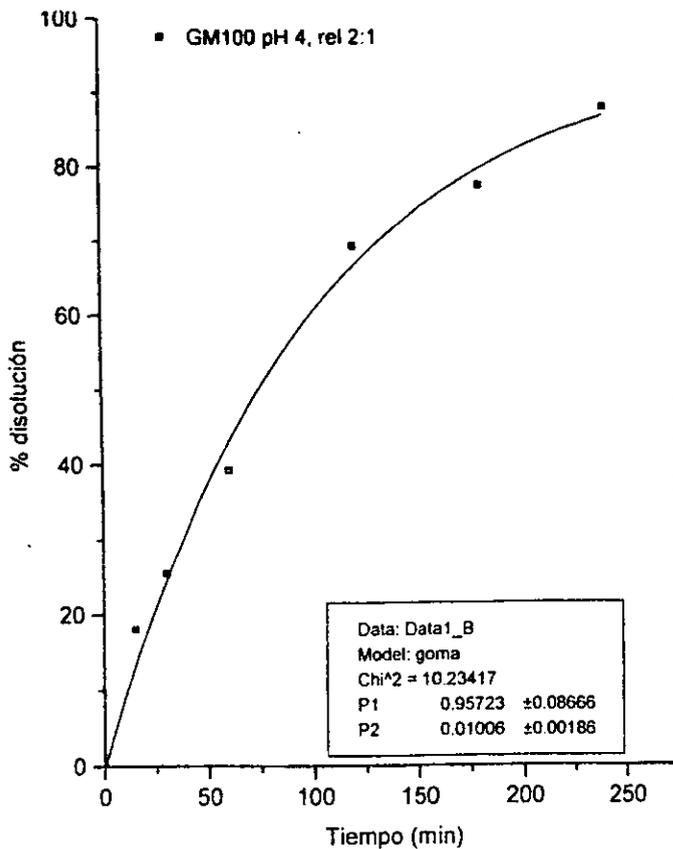
GA17-GM66-MD17 pH 8, relación 3:1

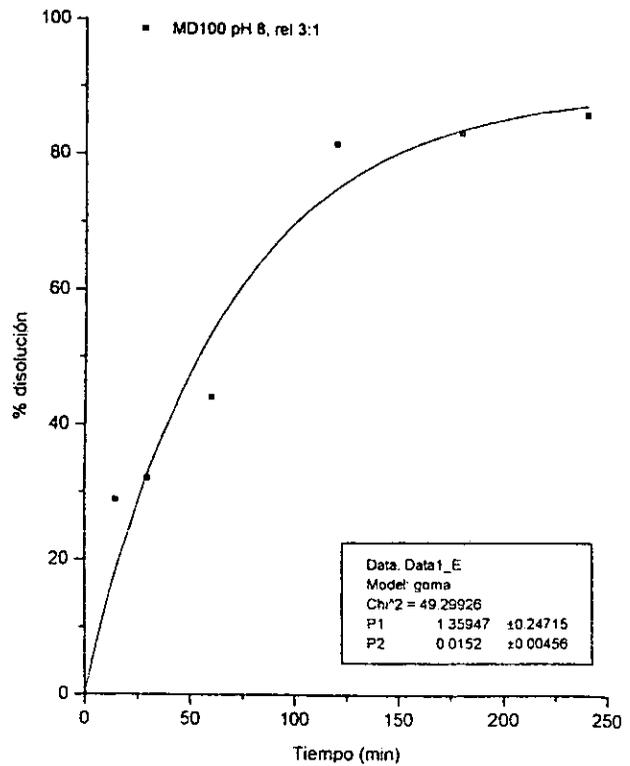
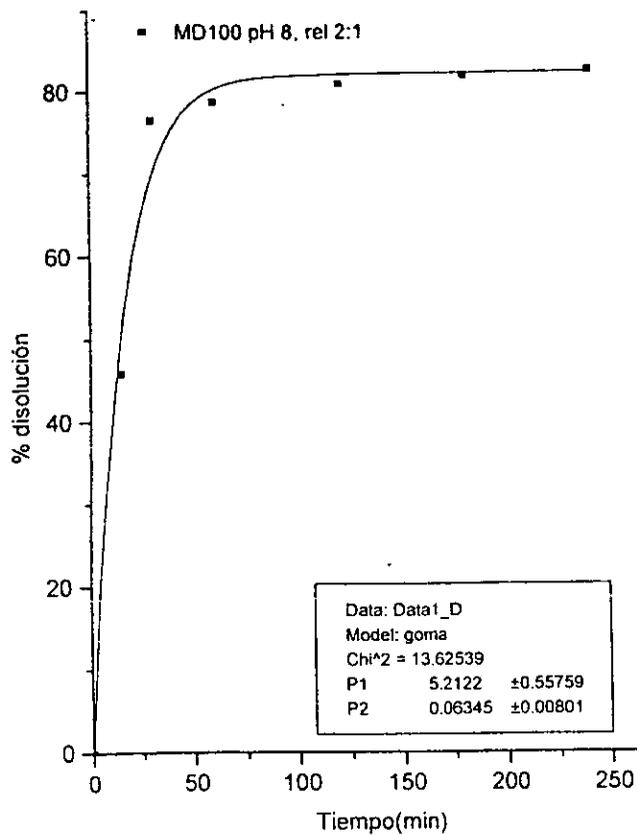
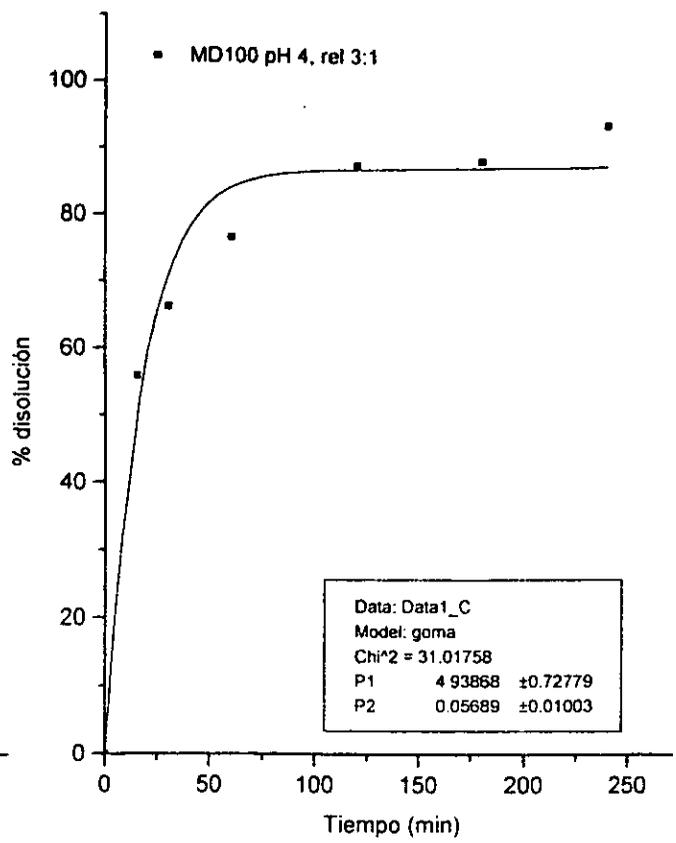
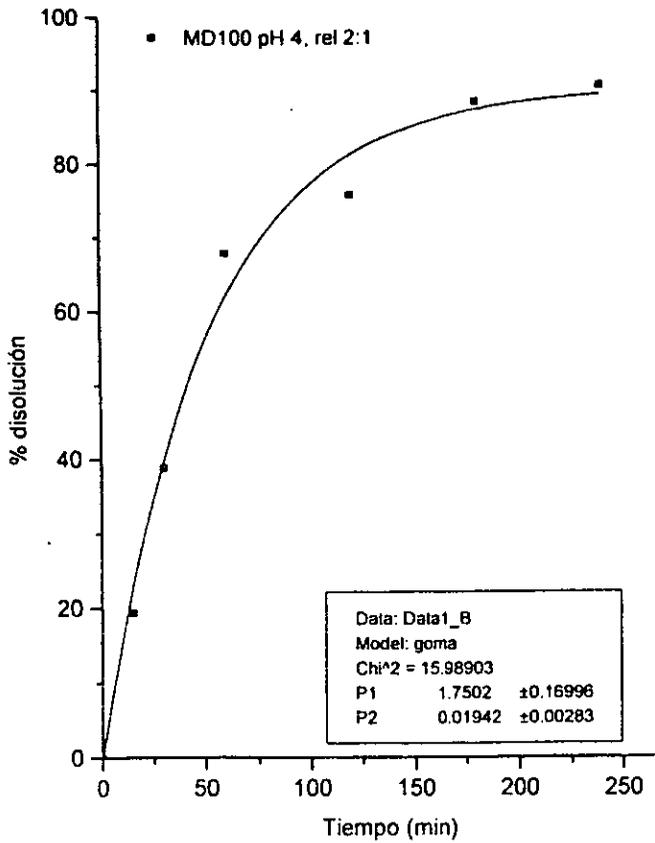


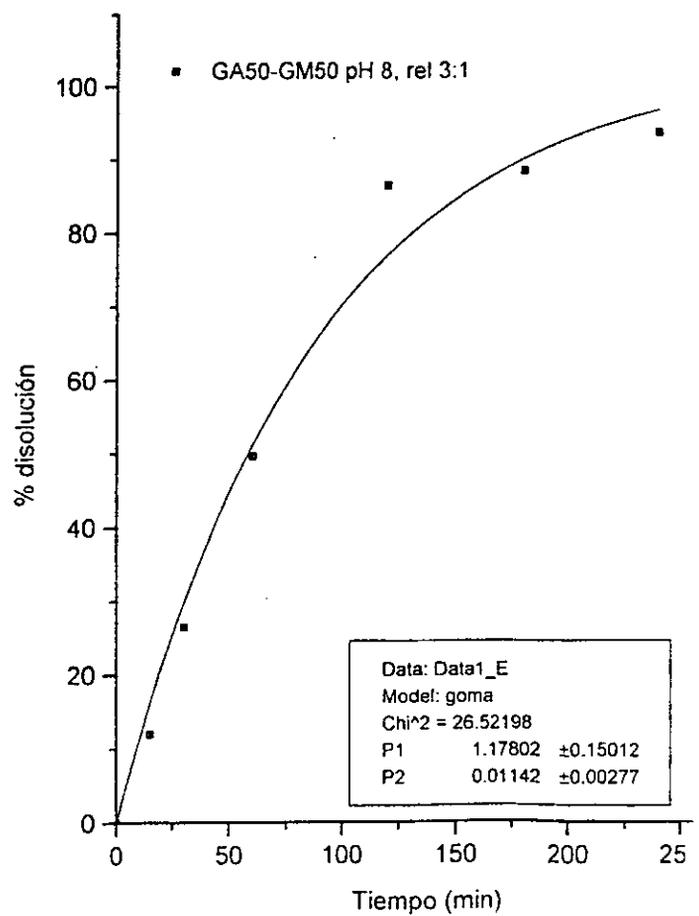
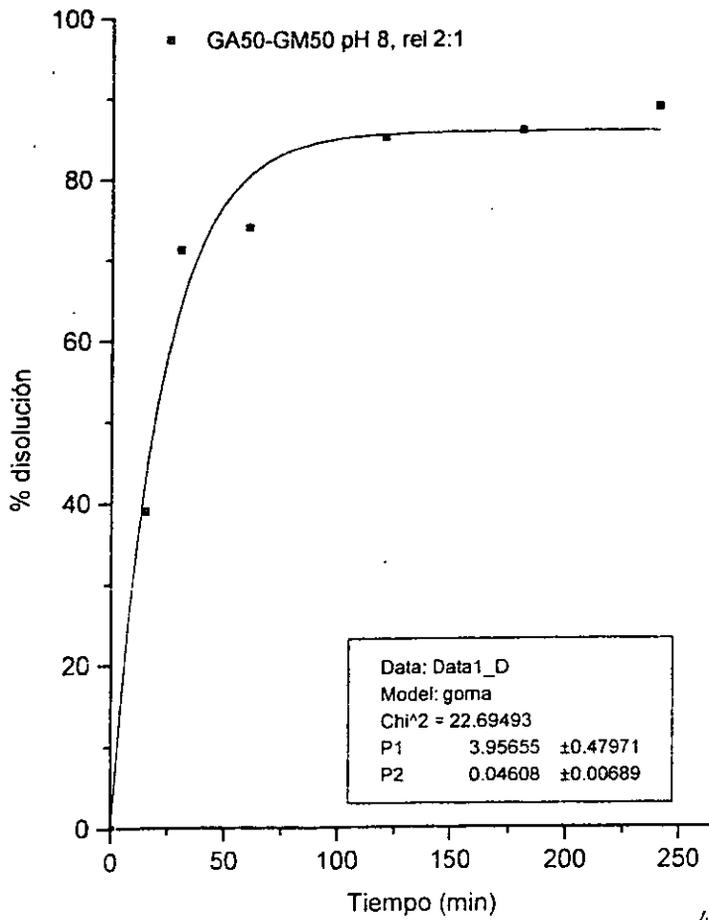
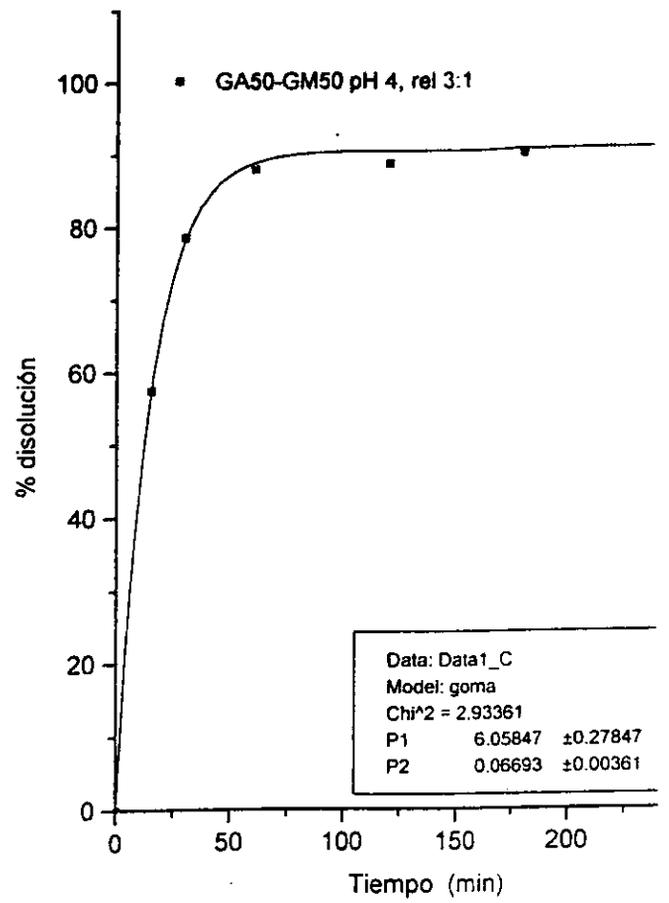
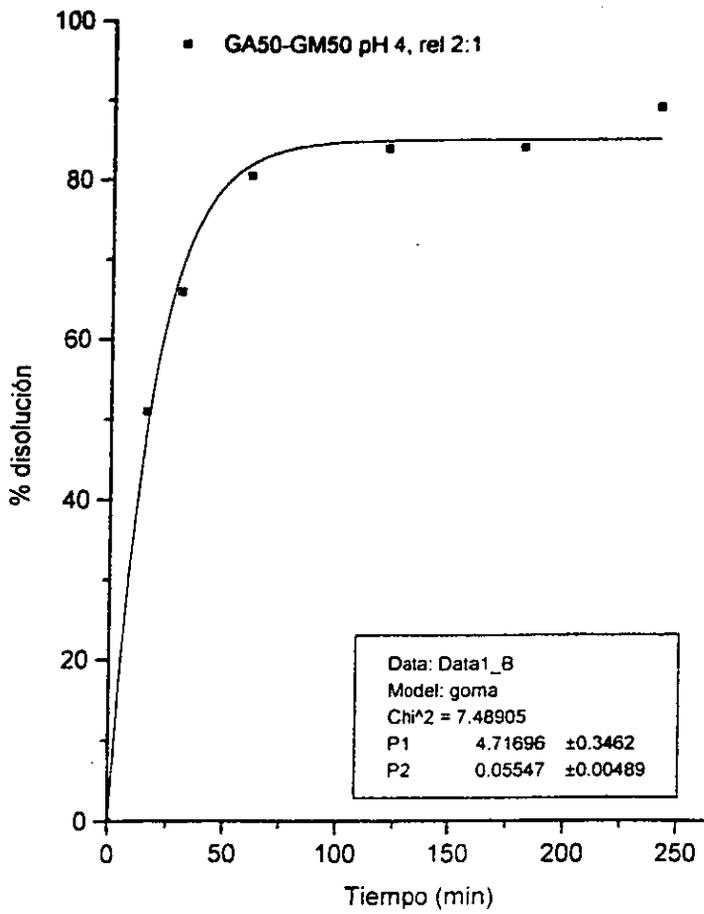
GA17-GM17-MD66 pH 8, relación 3:1

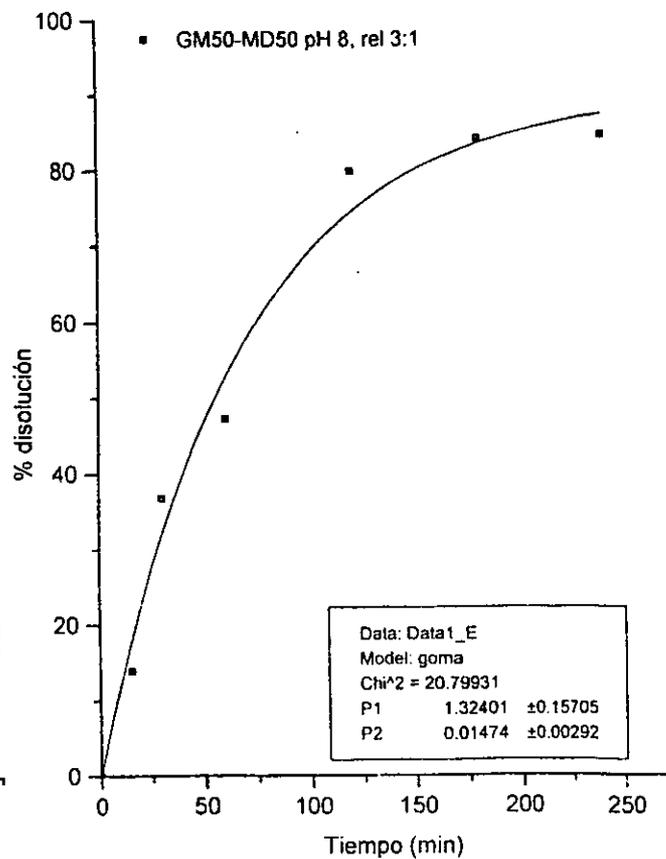
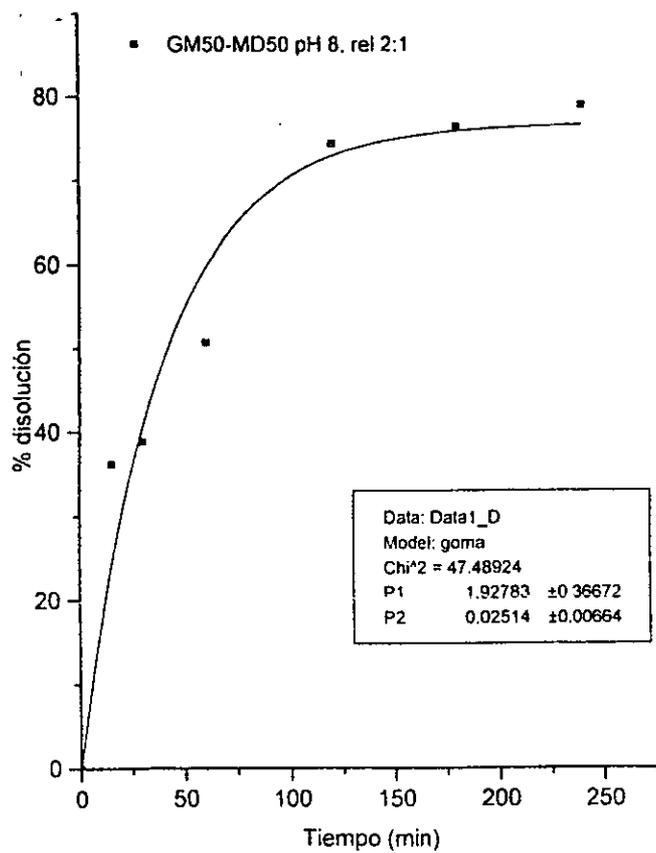
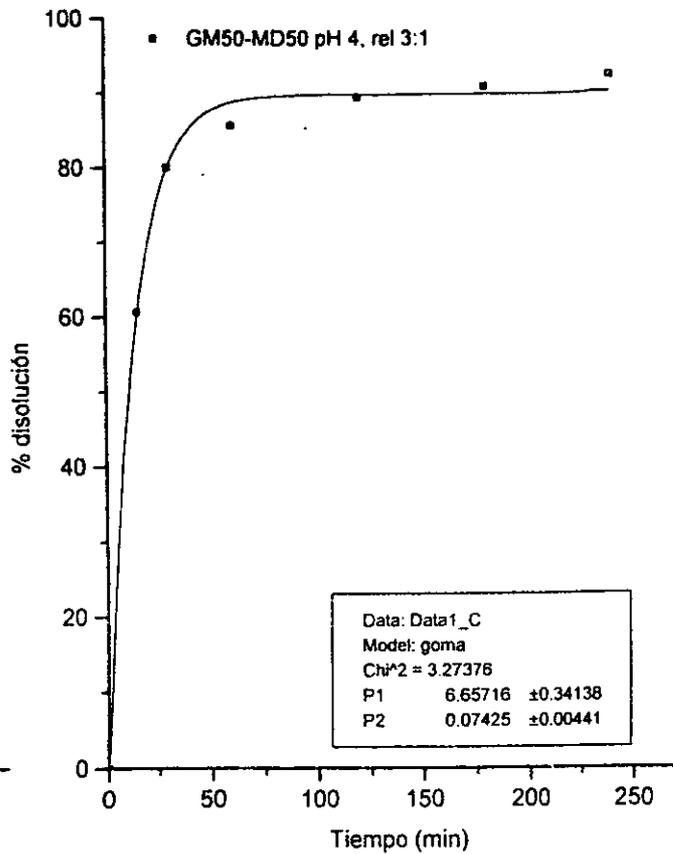
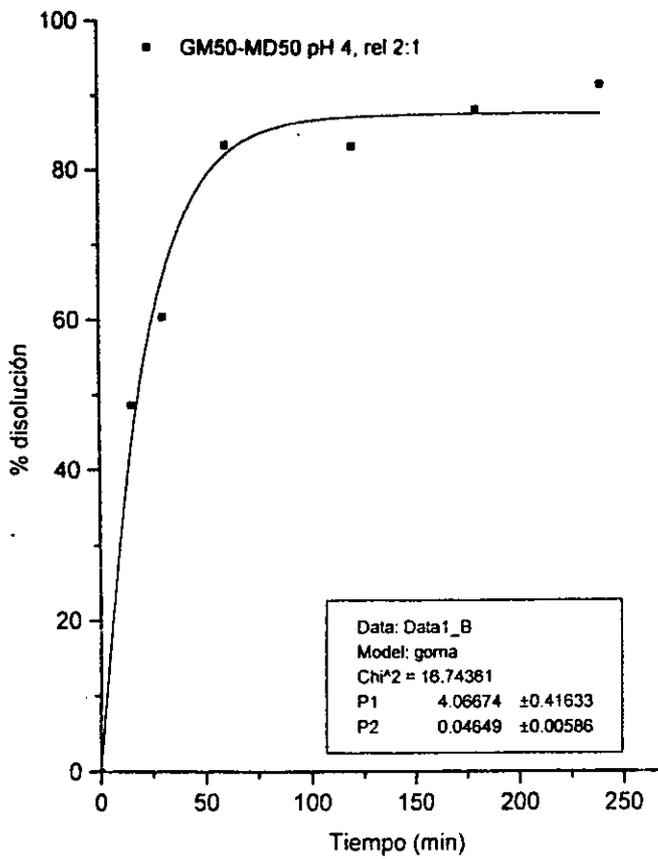
APÉNDICE 3
Gráficas de las cinéticas de disolución

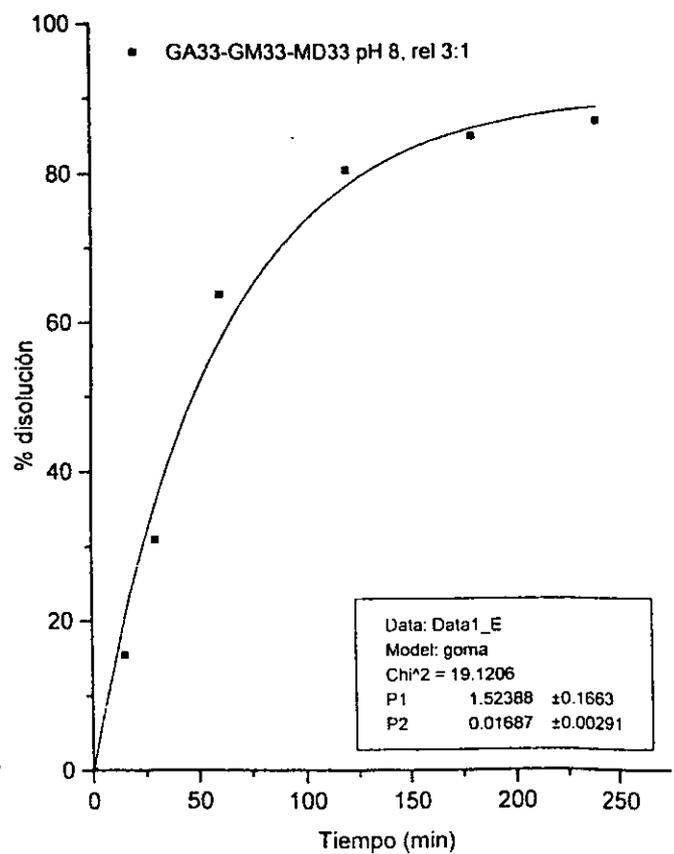
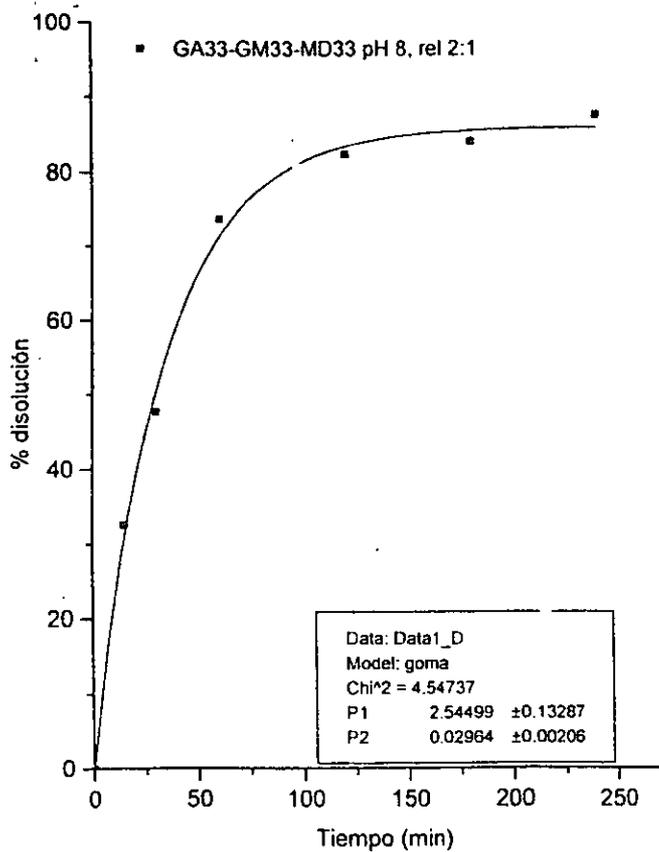
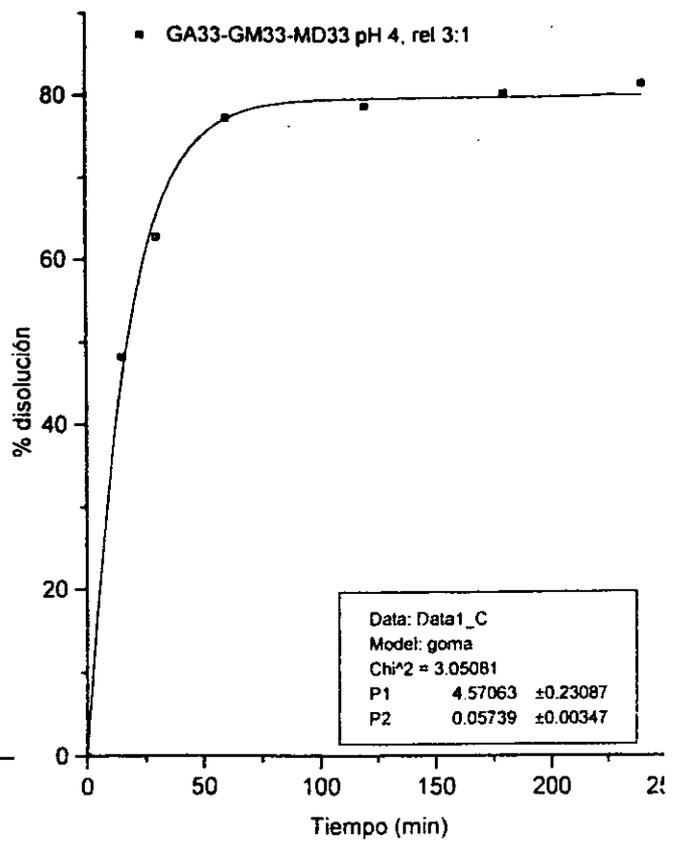
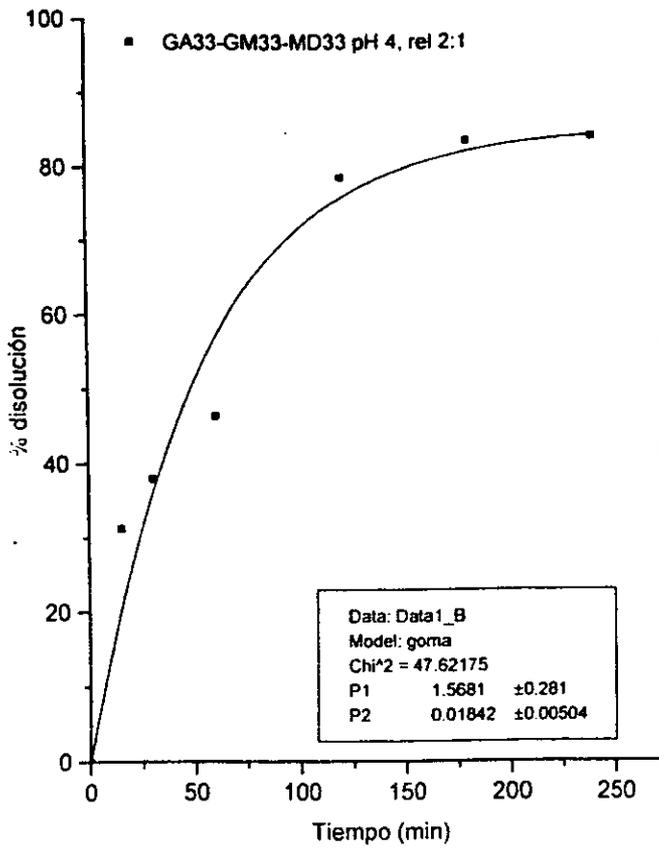


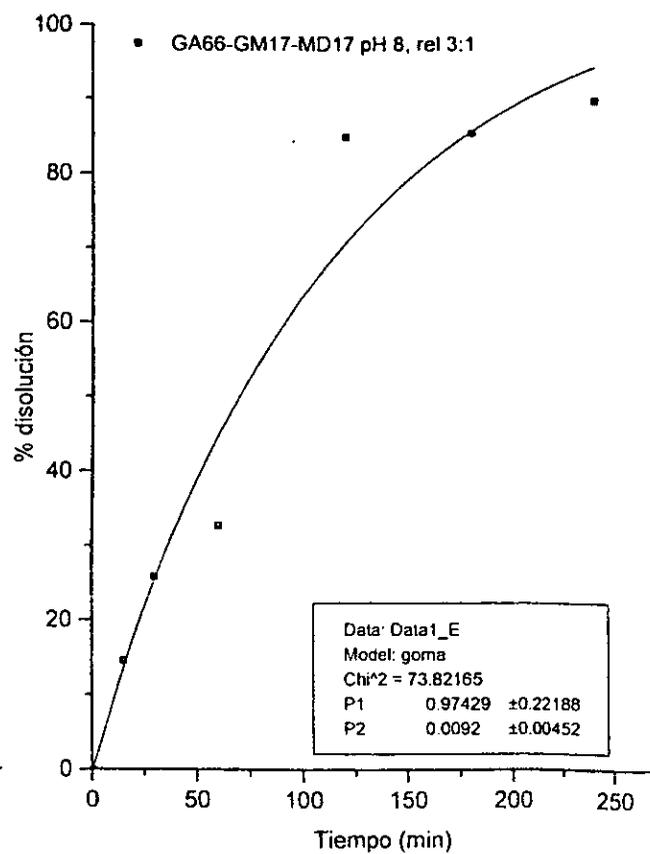
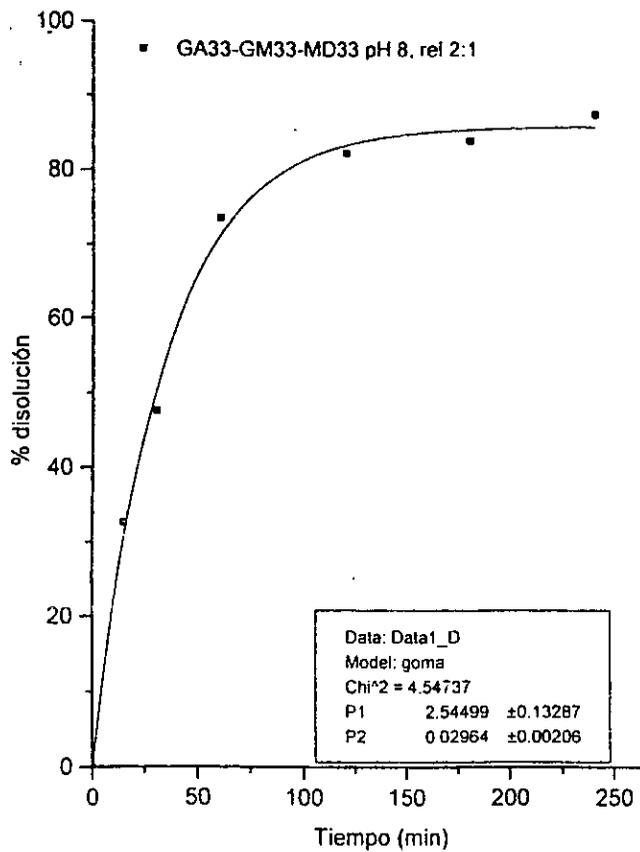
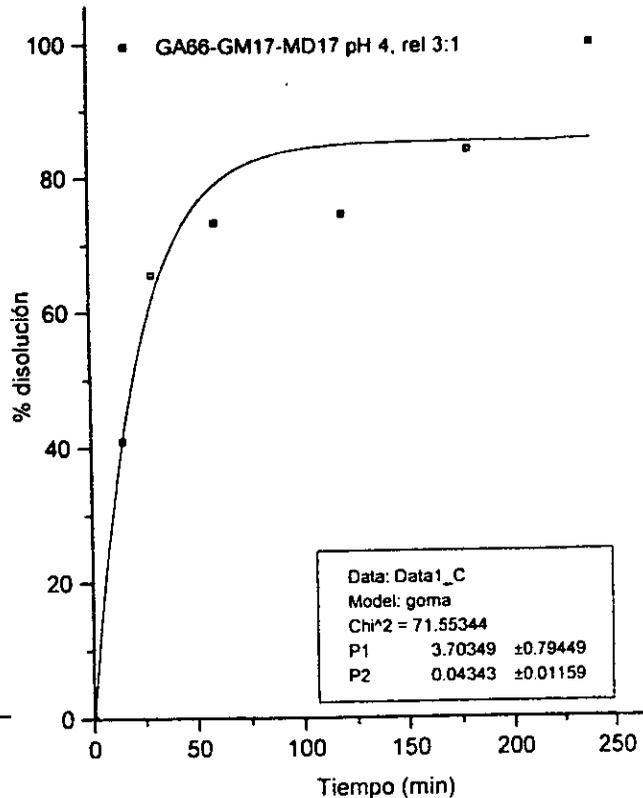
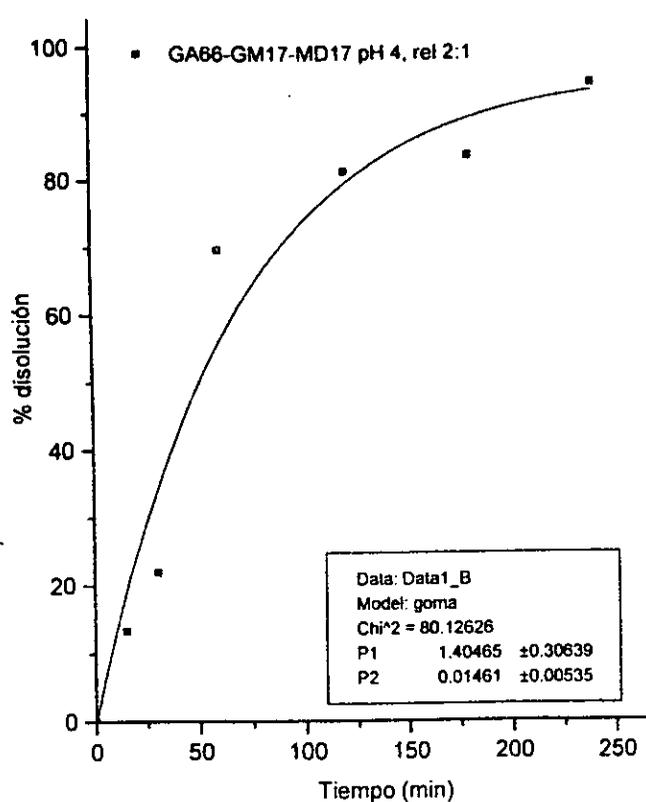


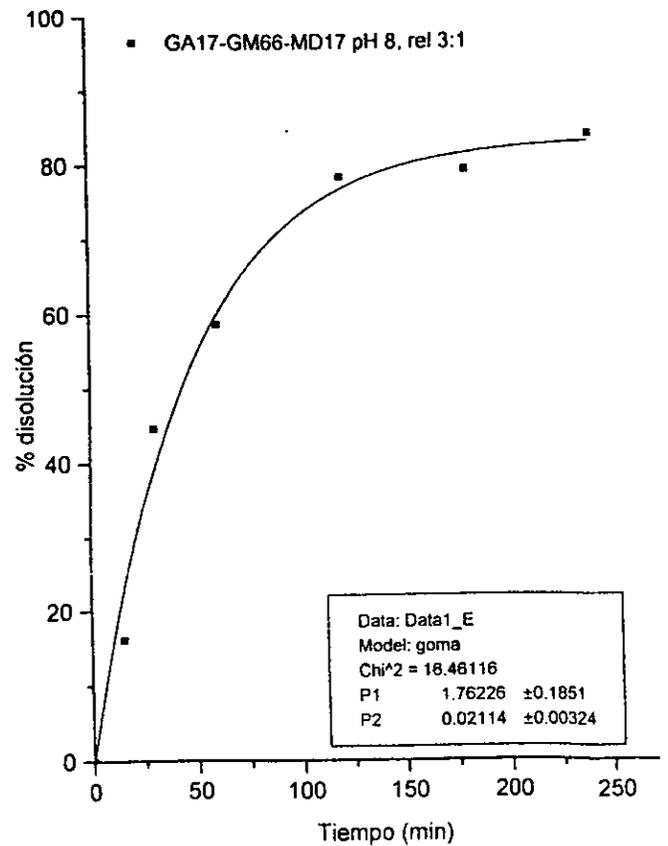
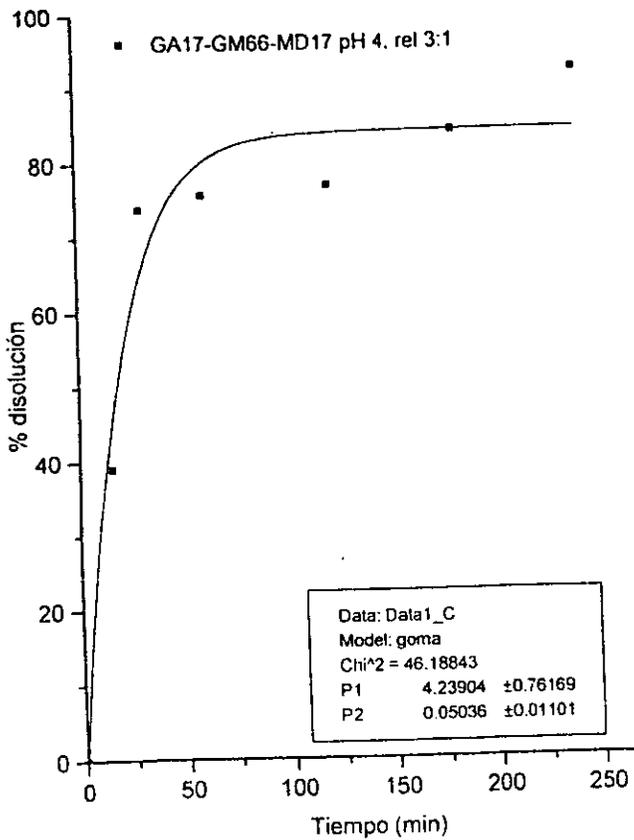
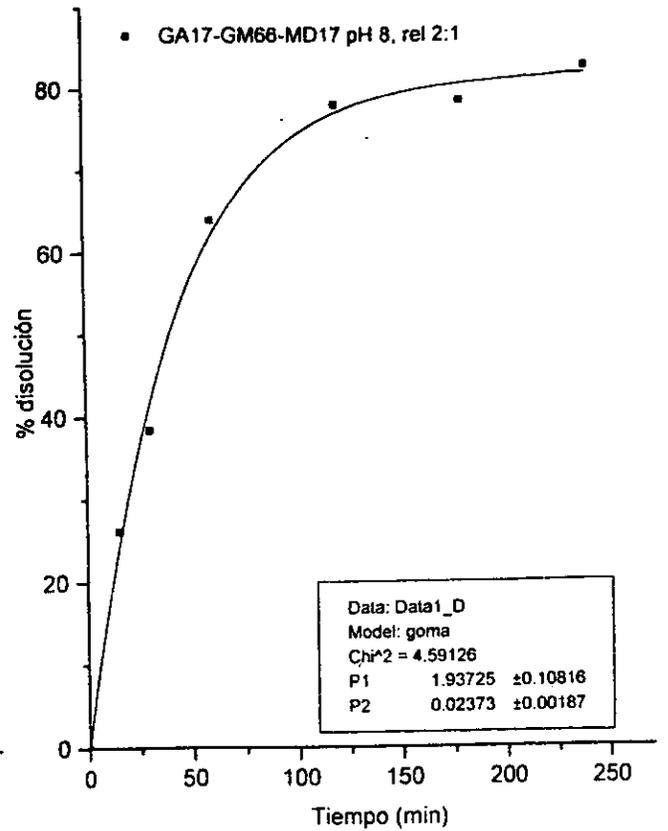
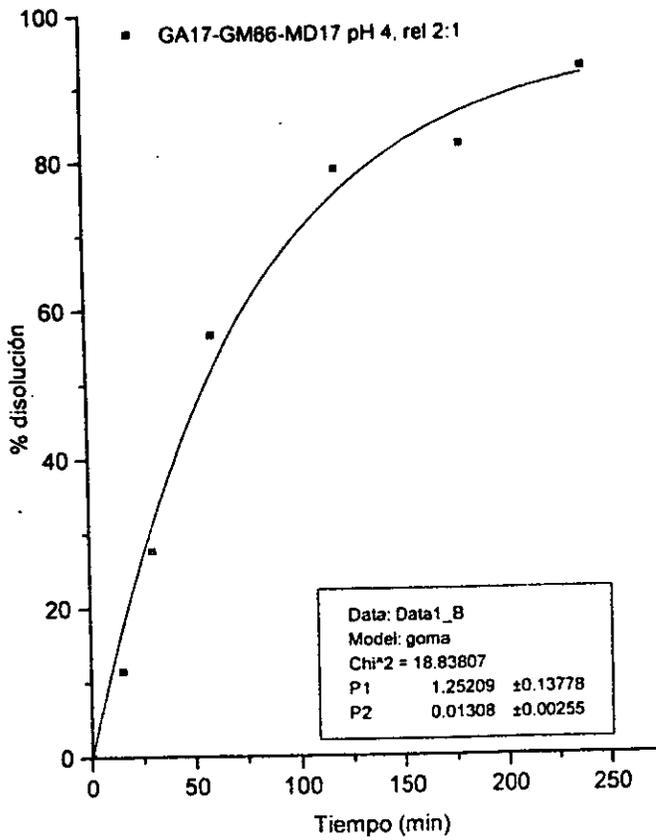


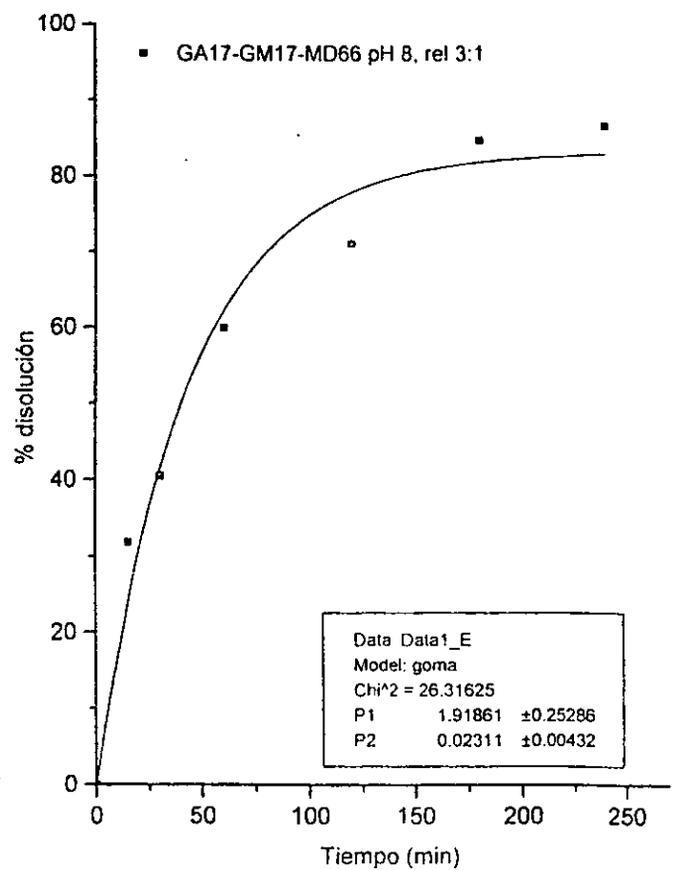
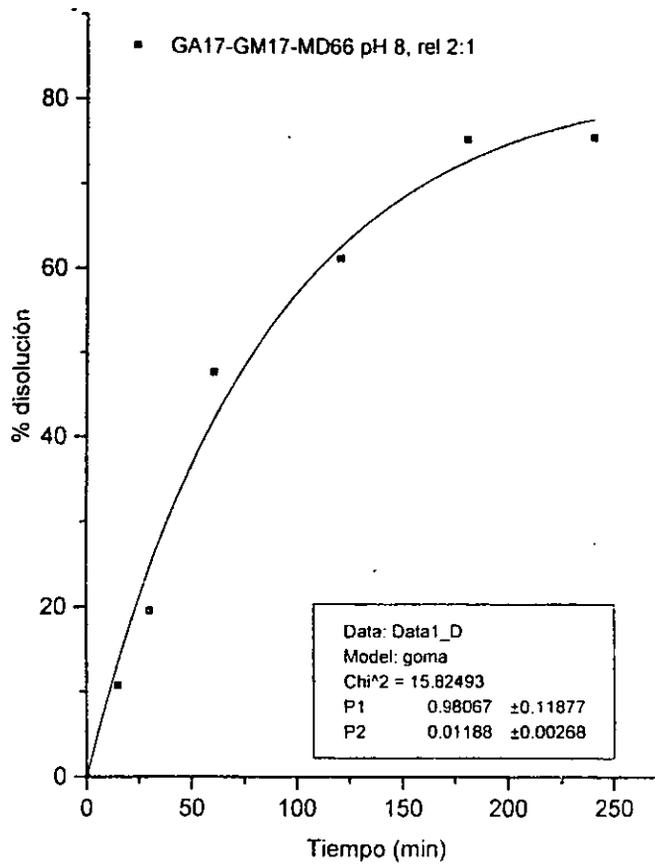
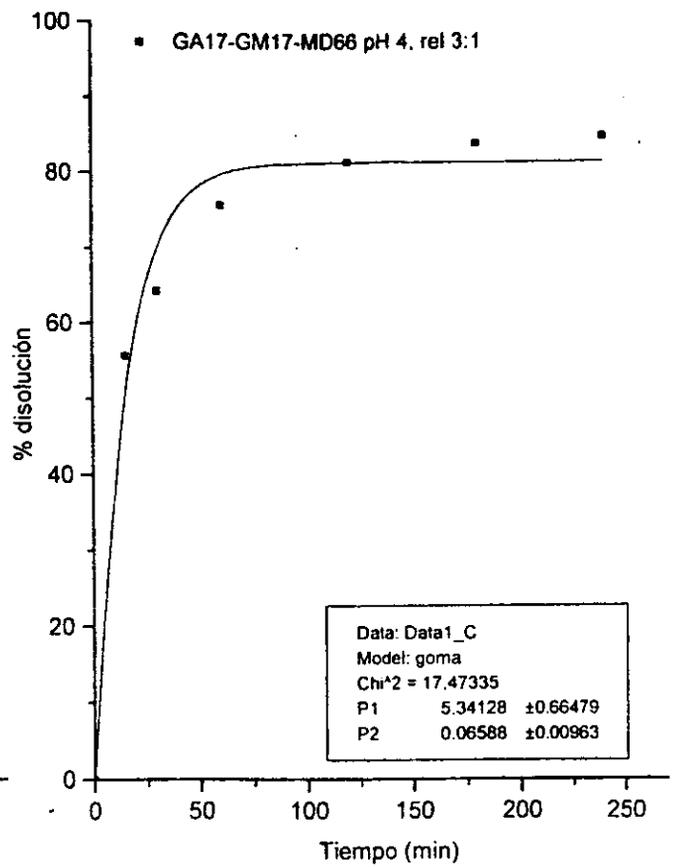
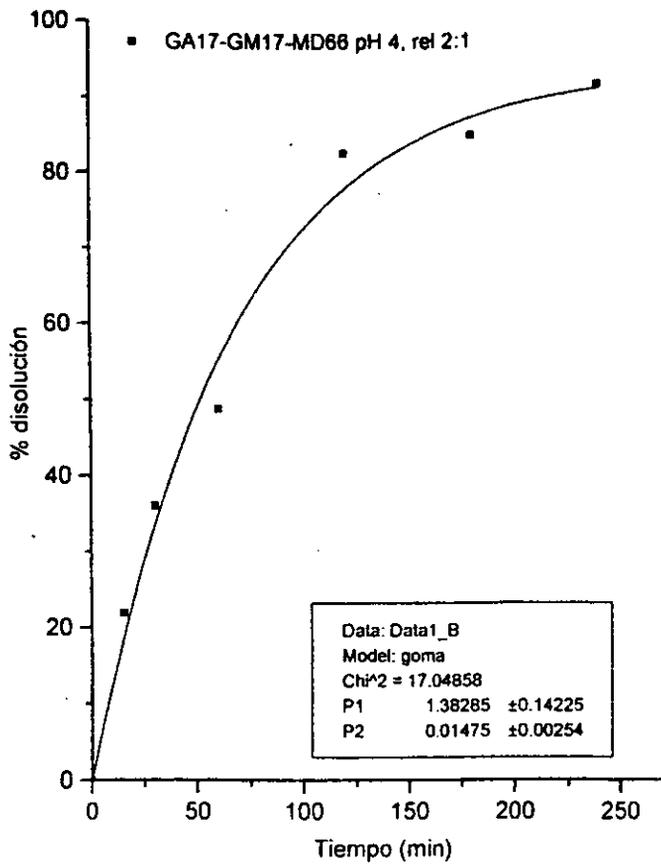


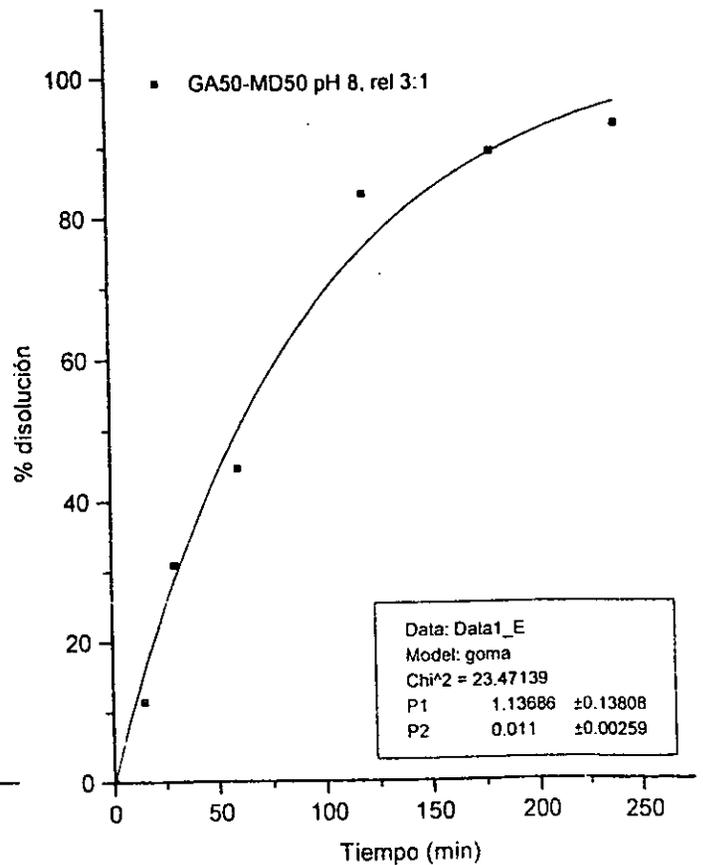
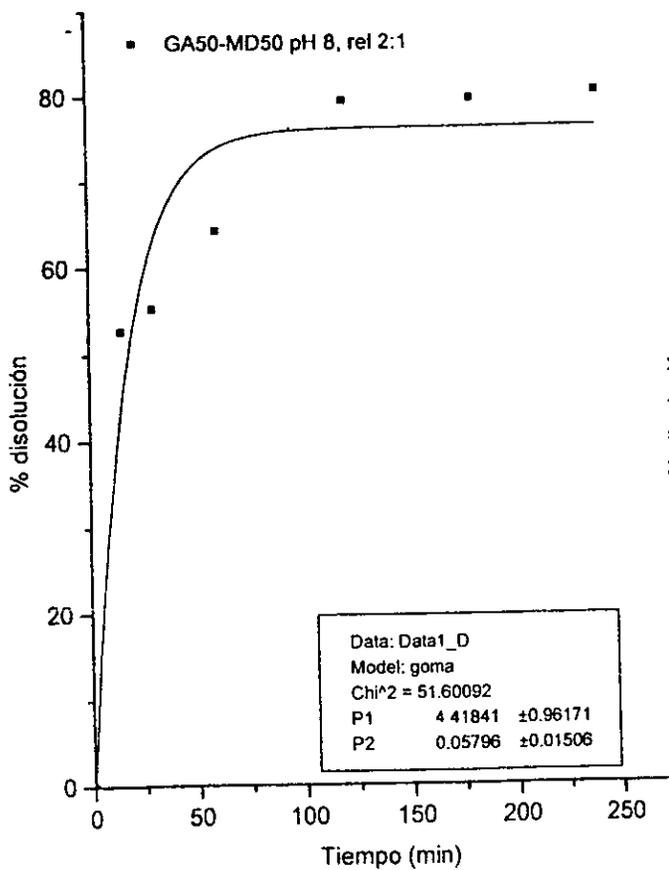
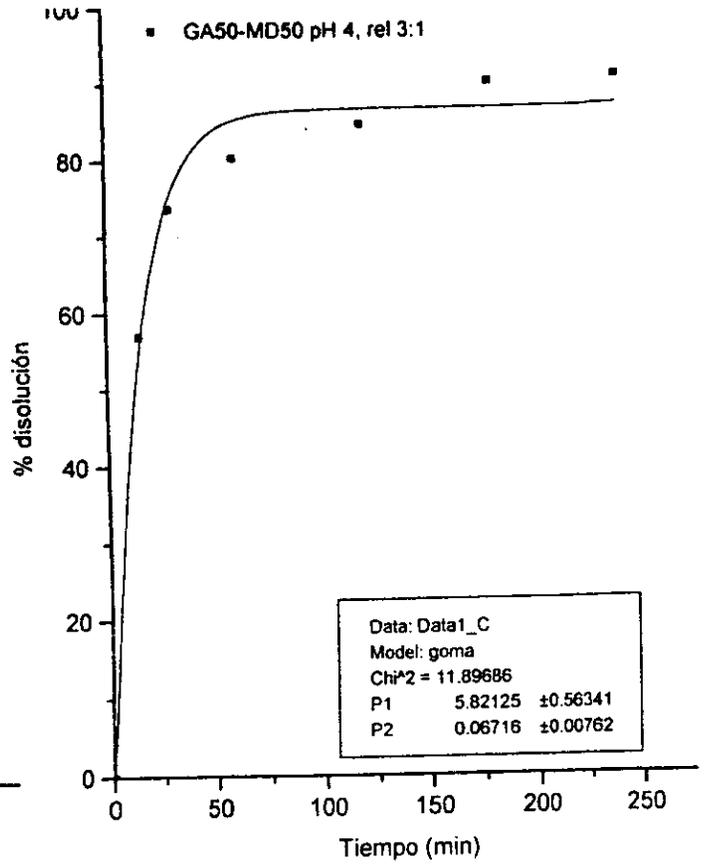
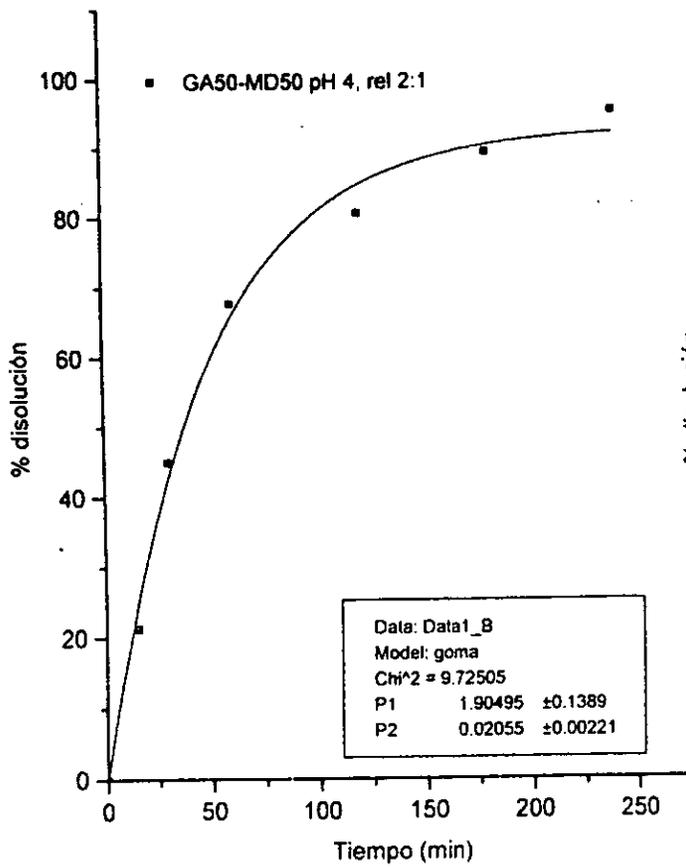




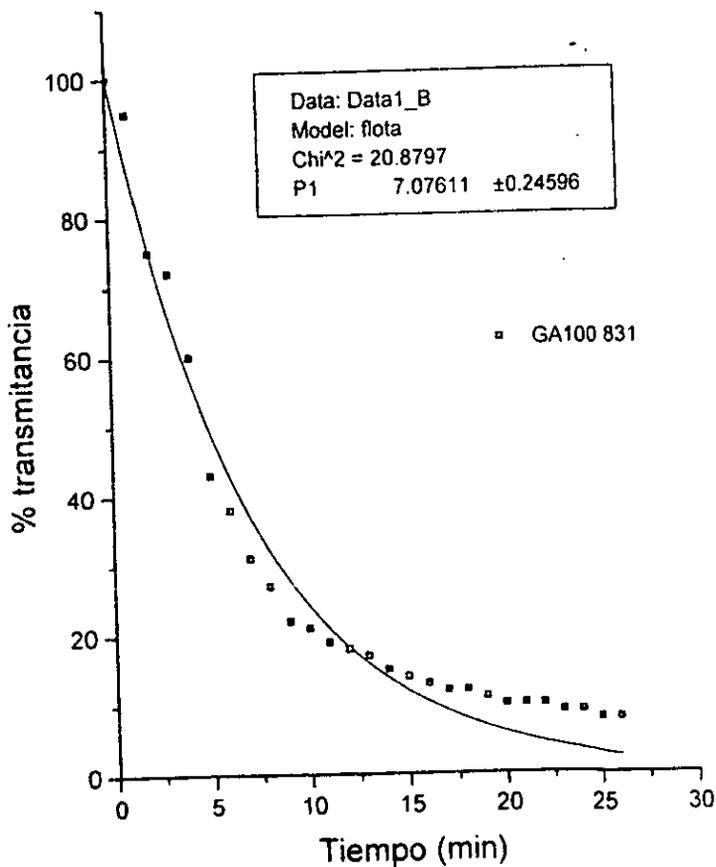
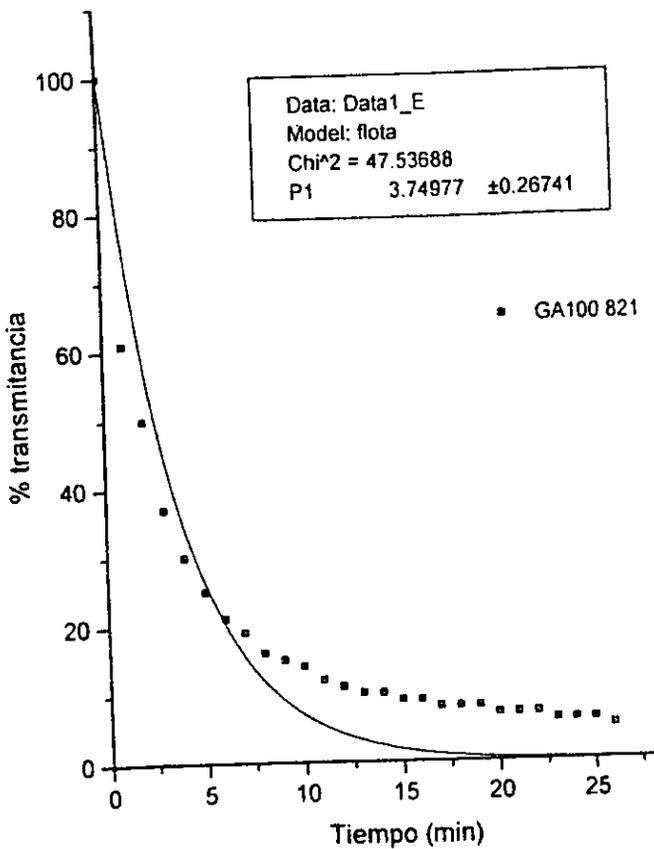
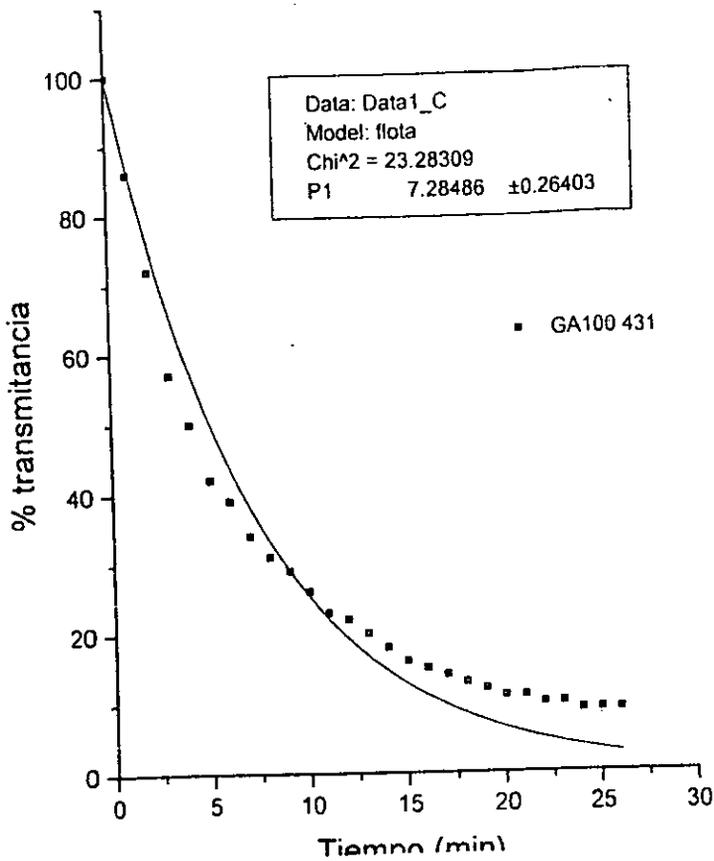
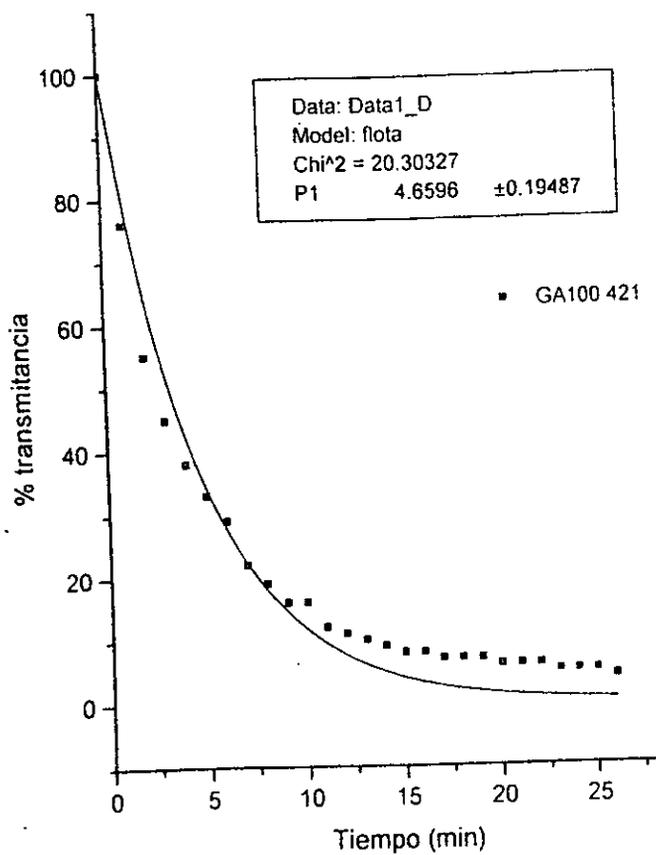


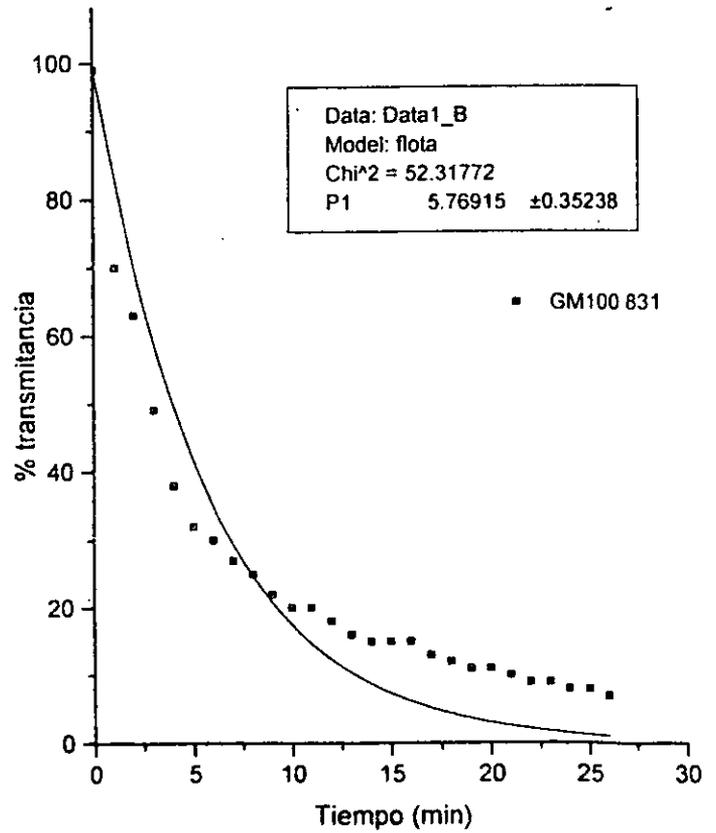
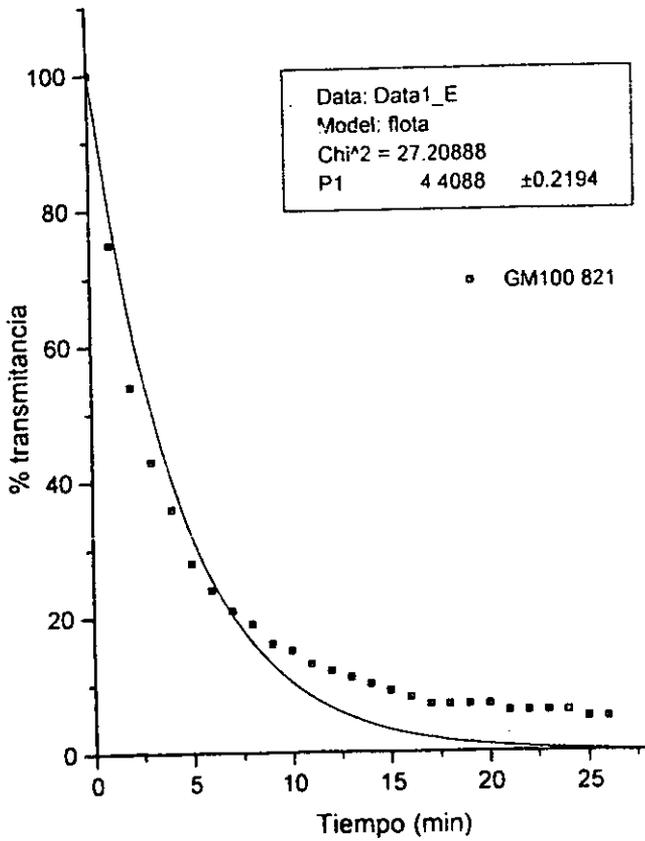
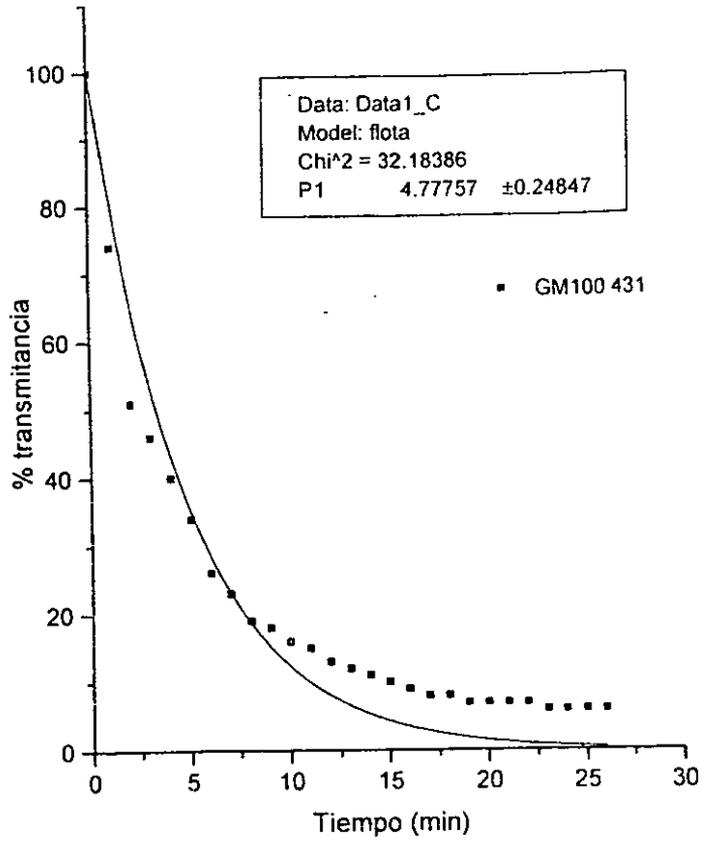
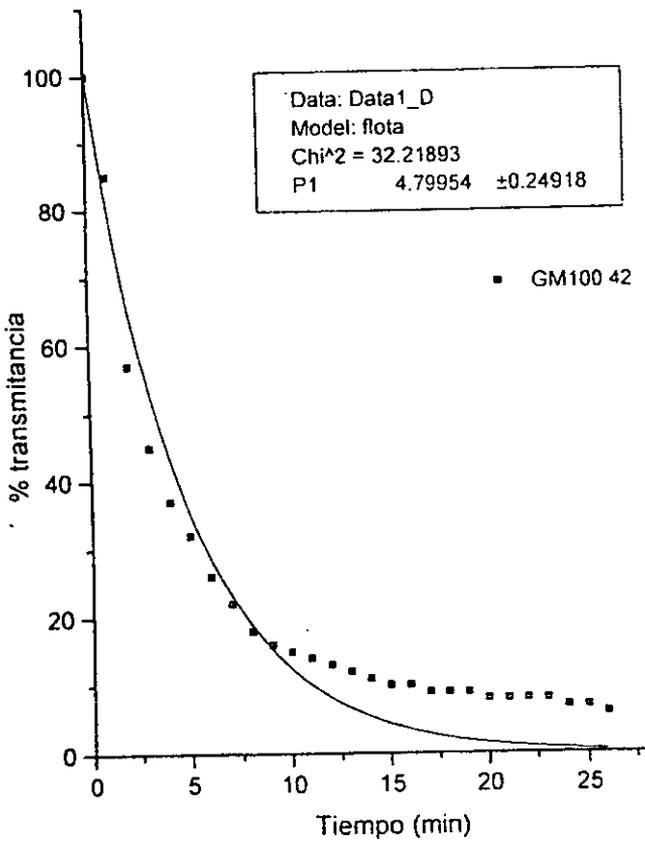


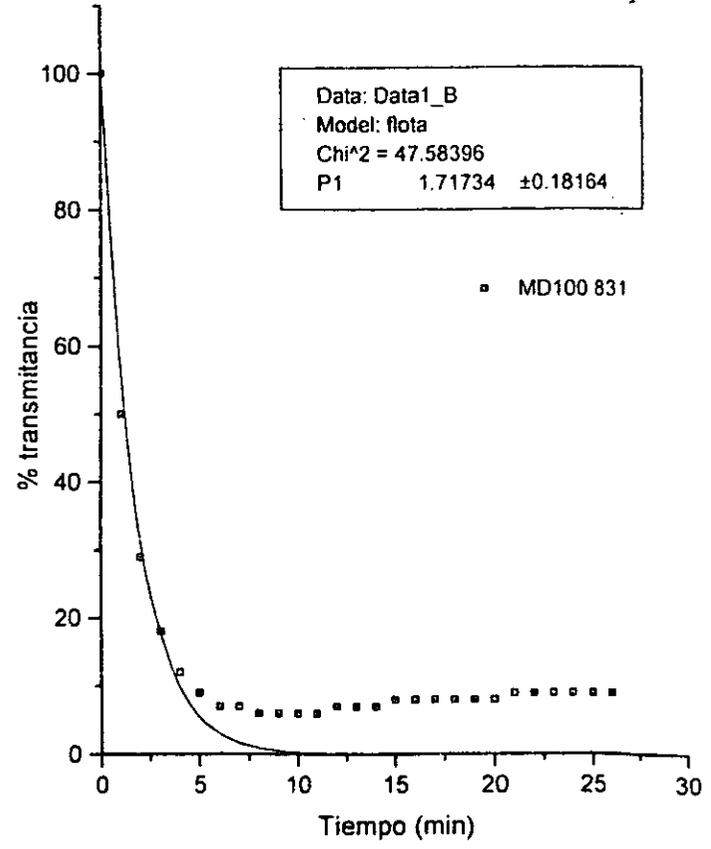
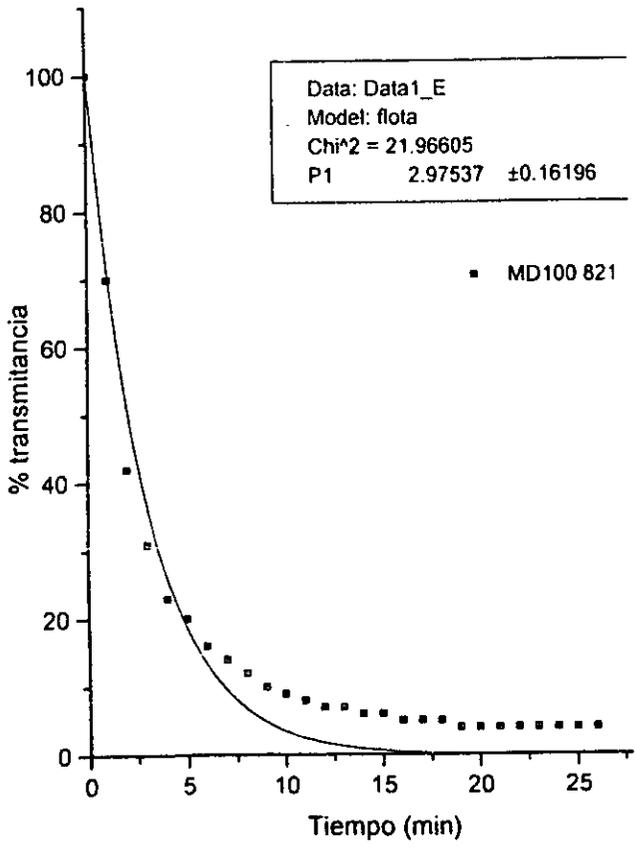
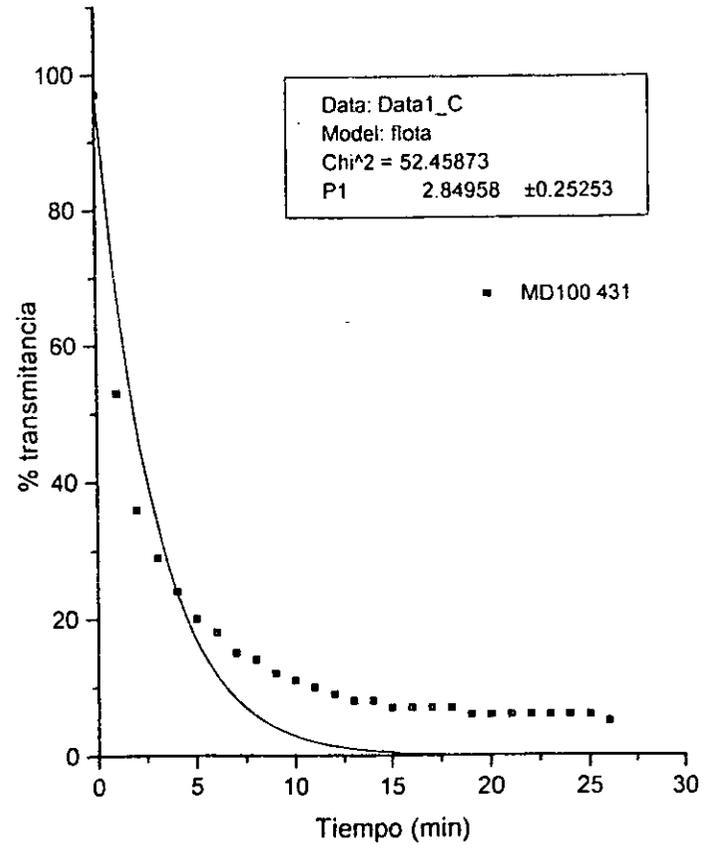
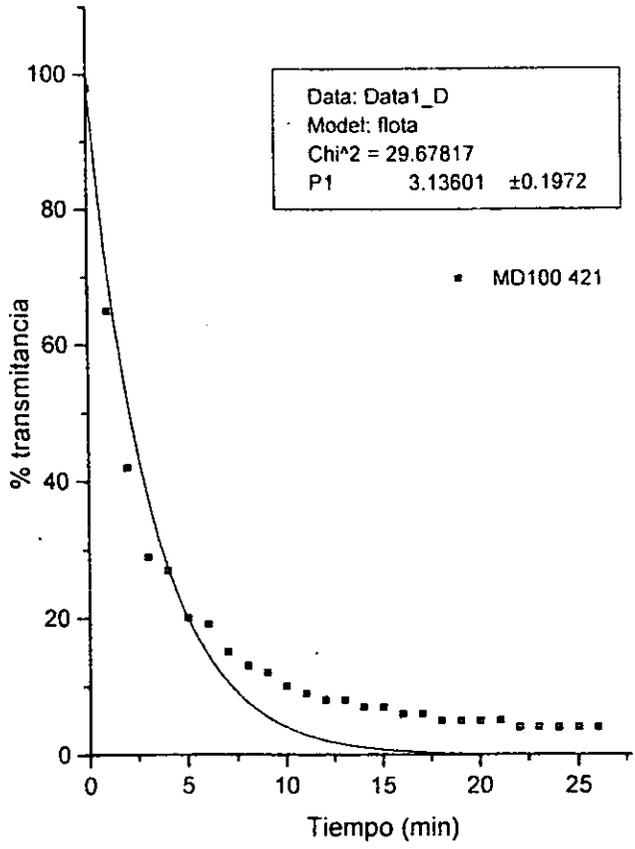


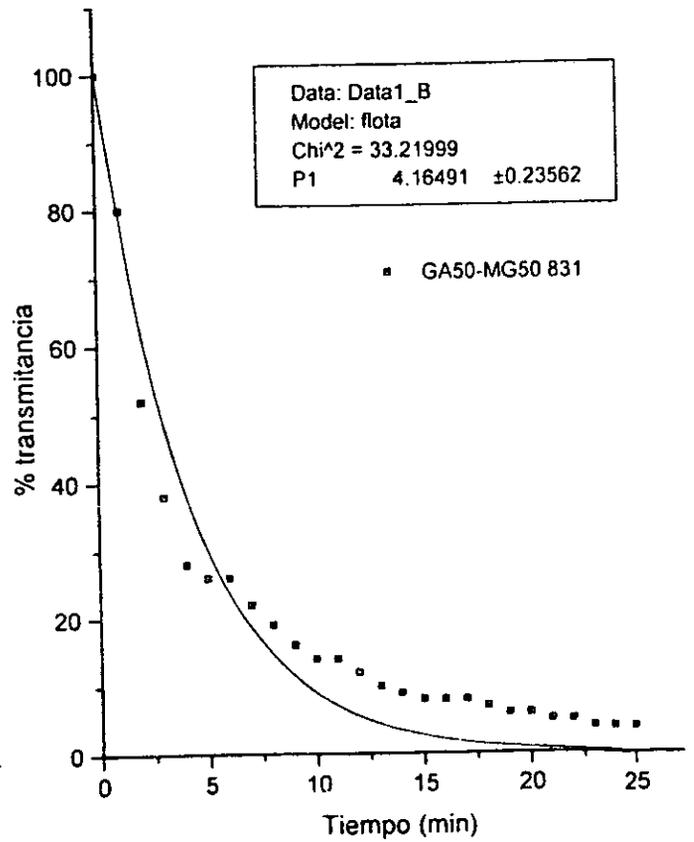
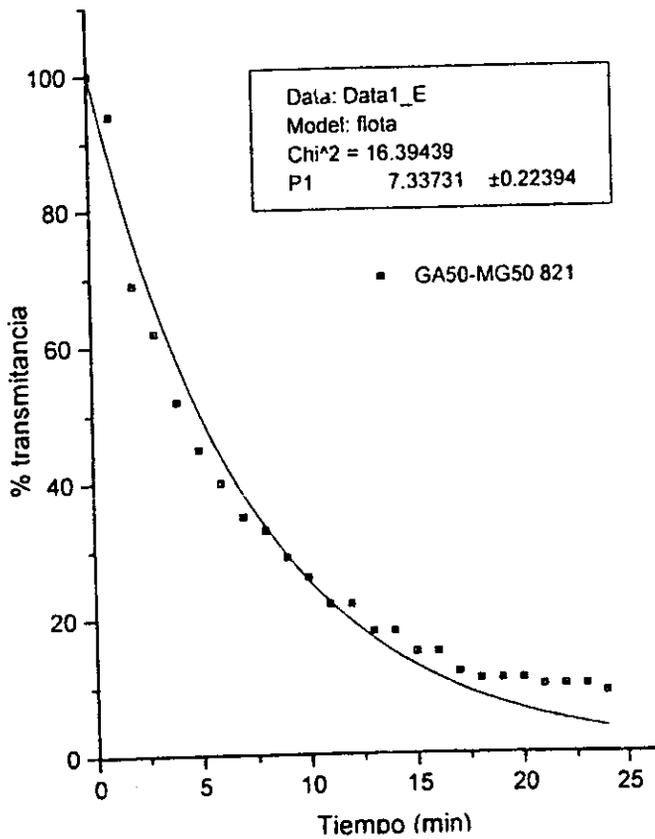
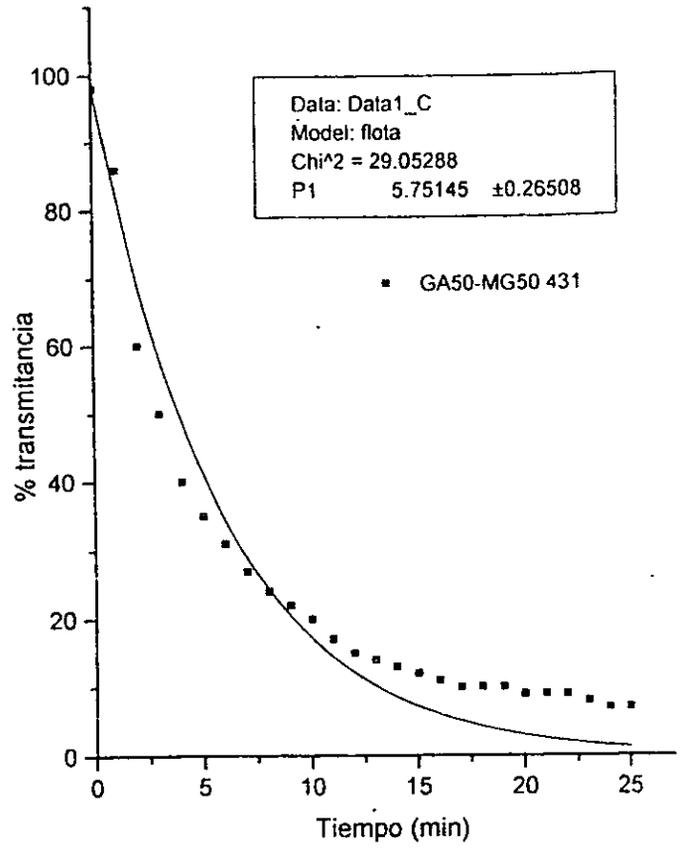
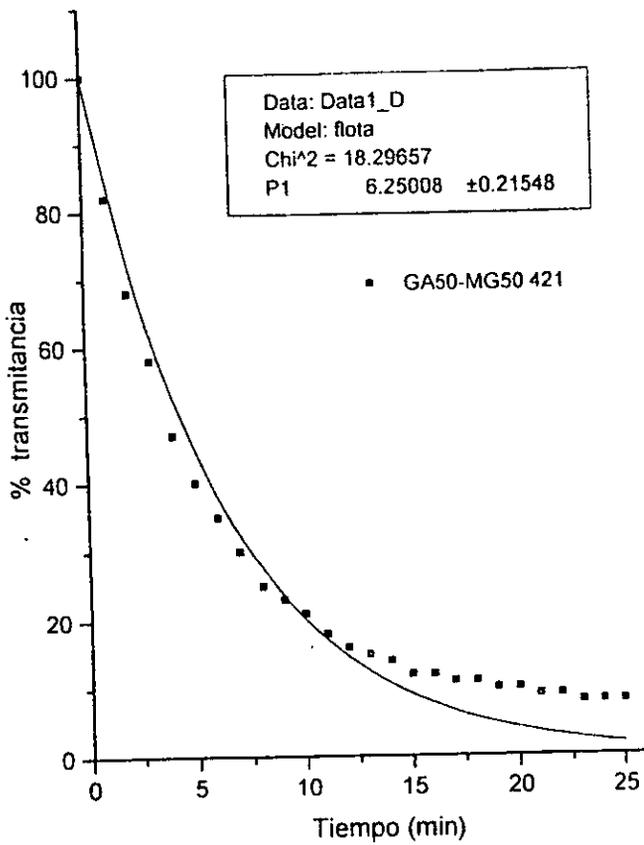


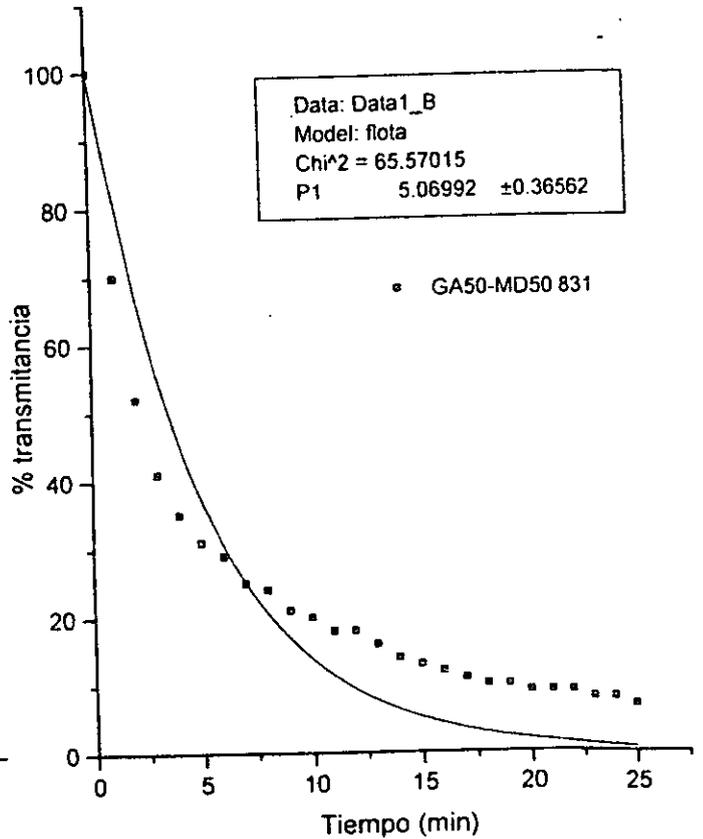
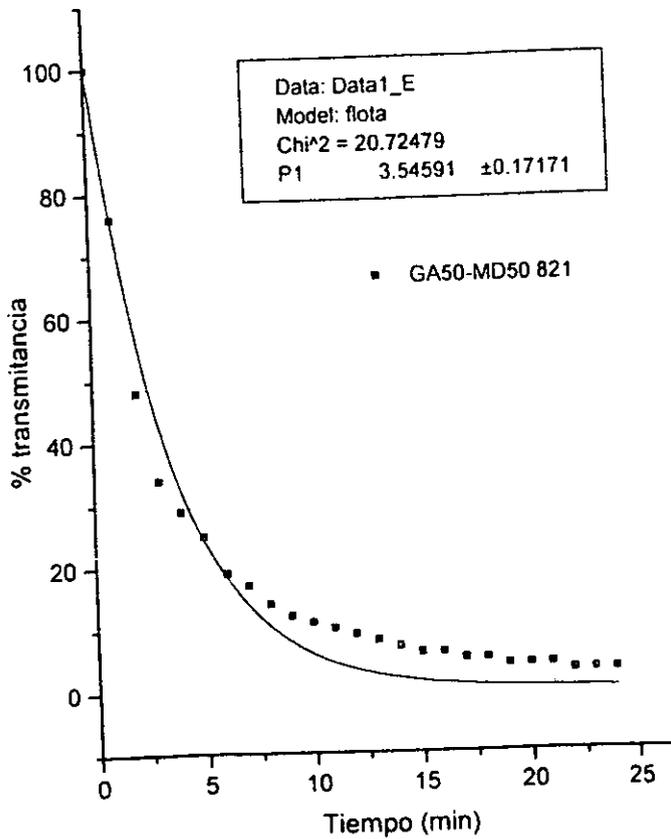
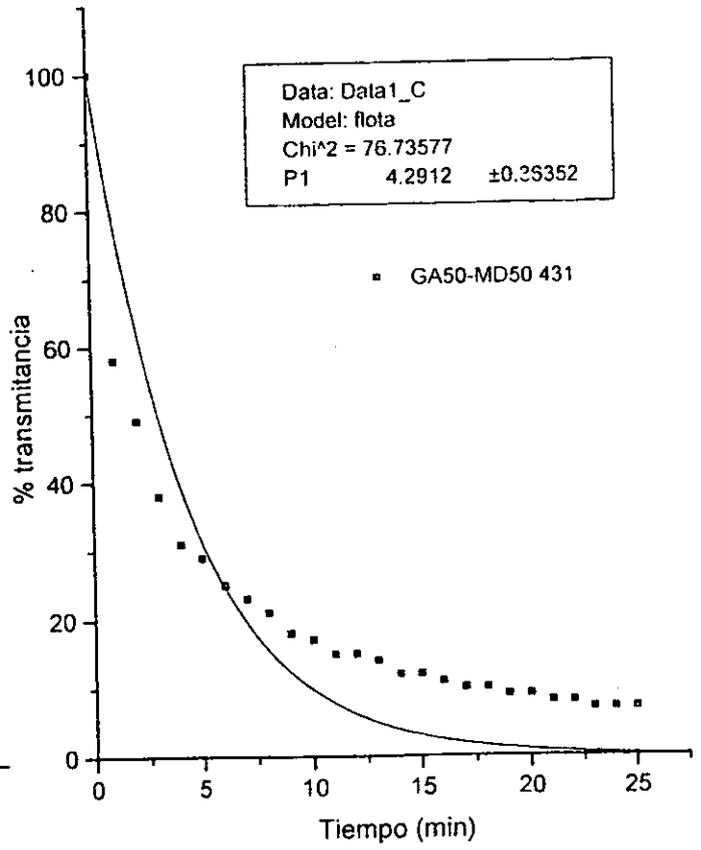
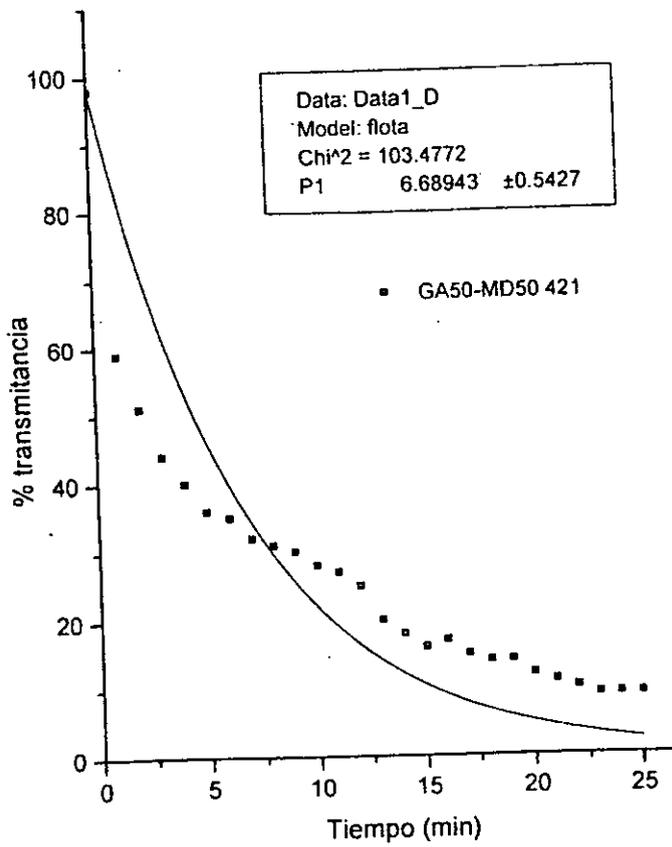
APÉNDICE 4
Gráficas de las cinéticas de flotabilidad

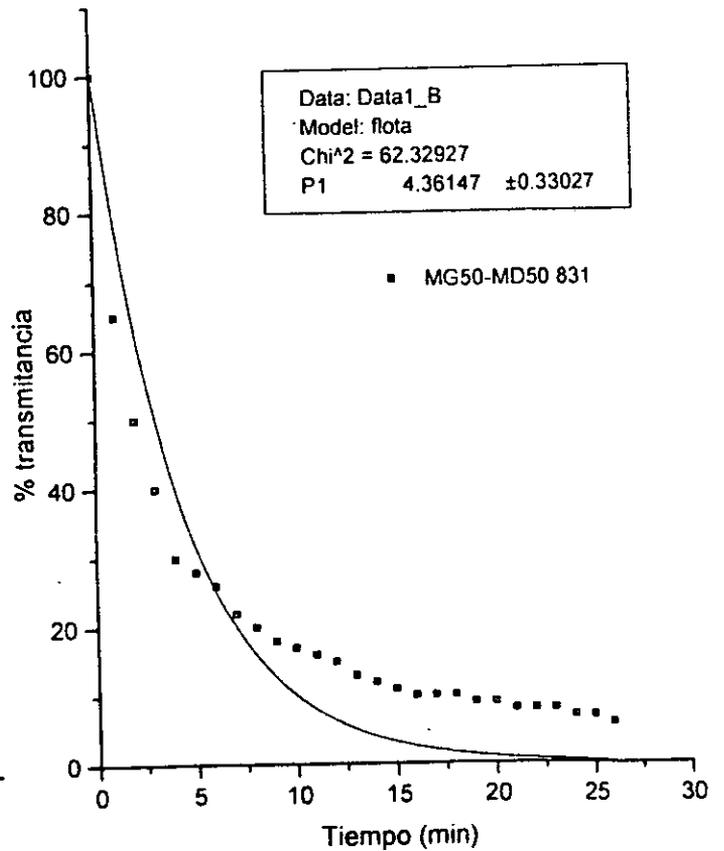
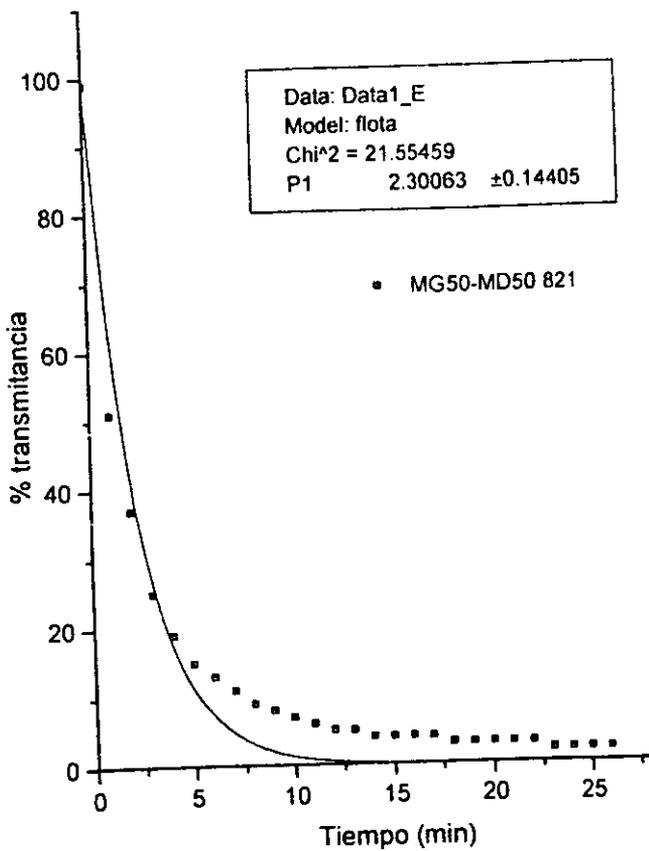
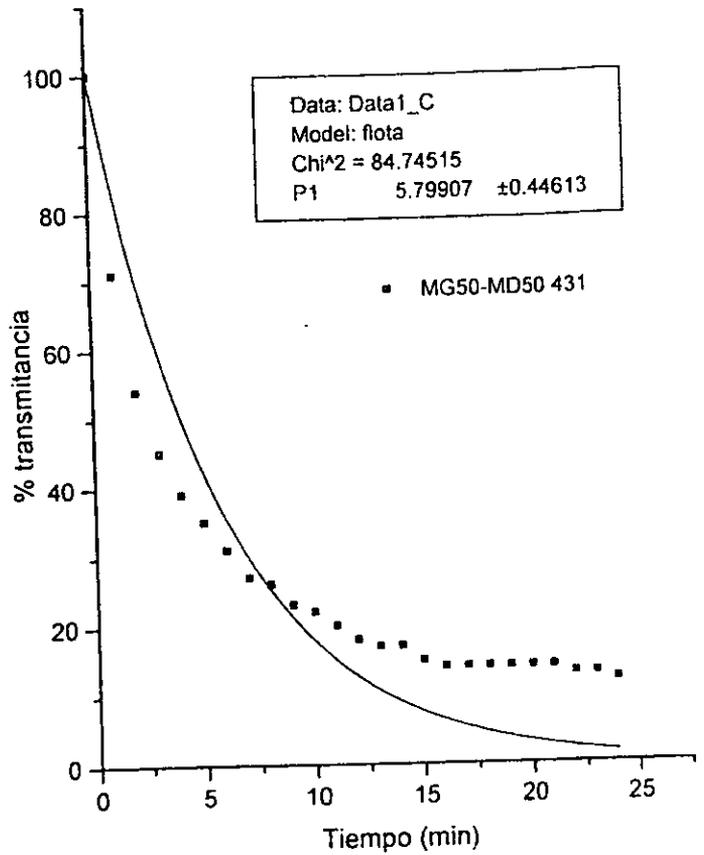
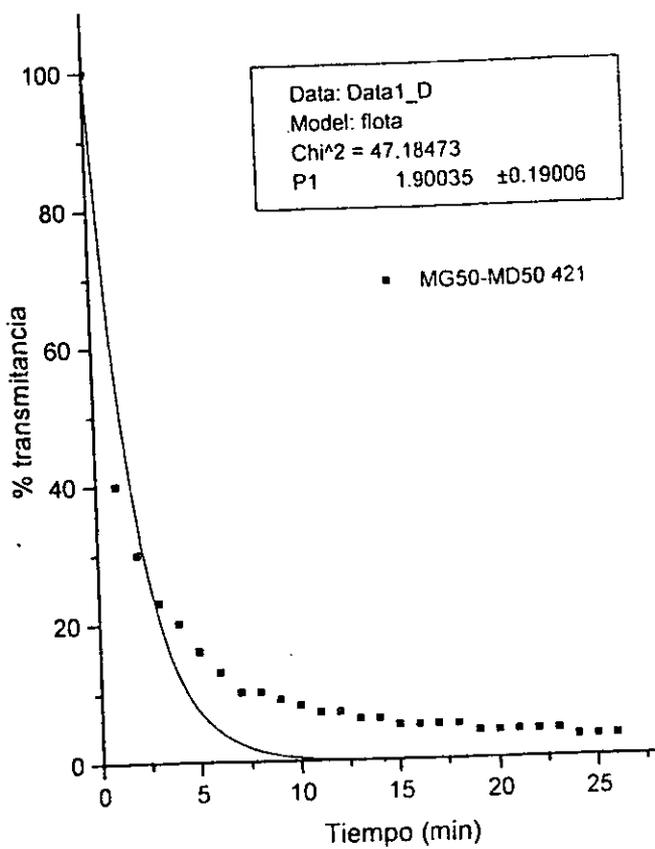


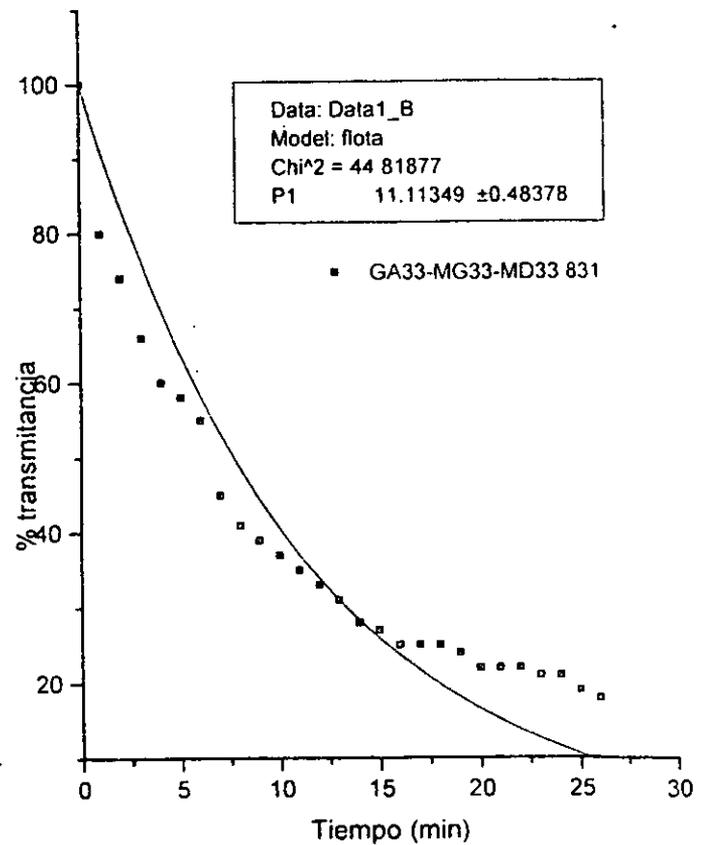
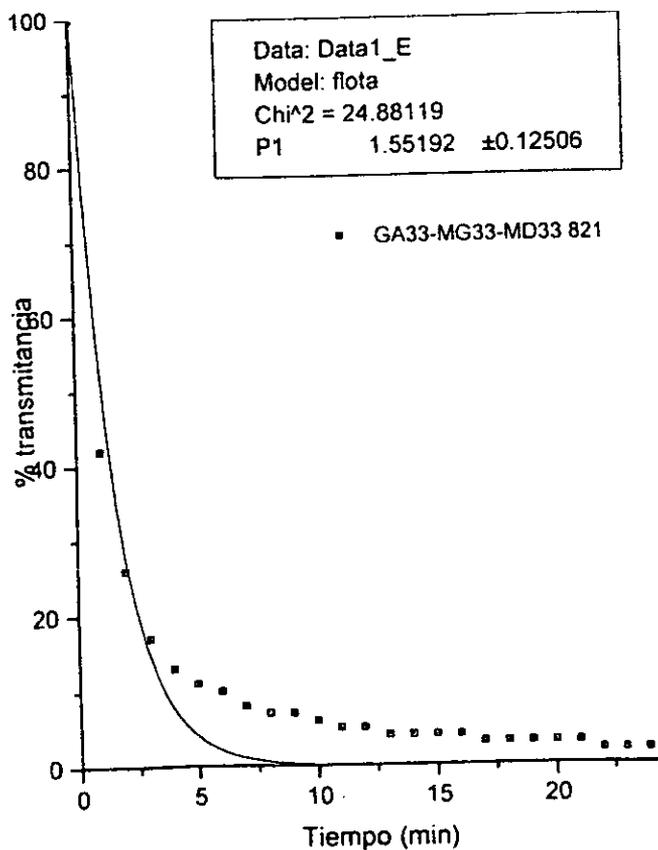
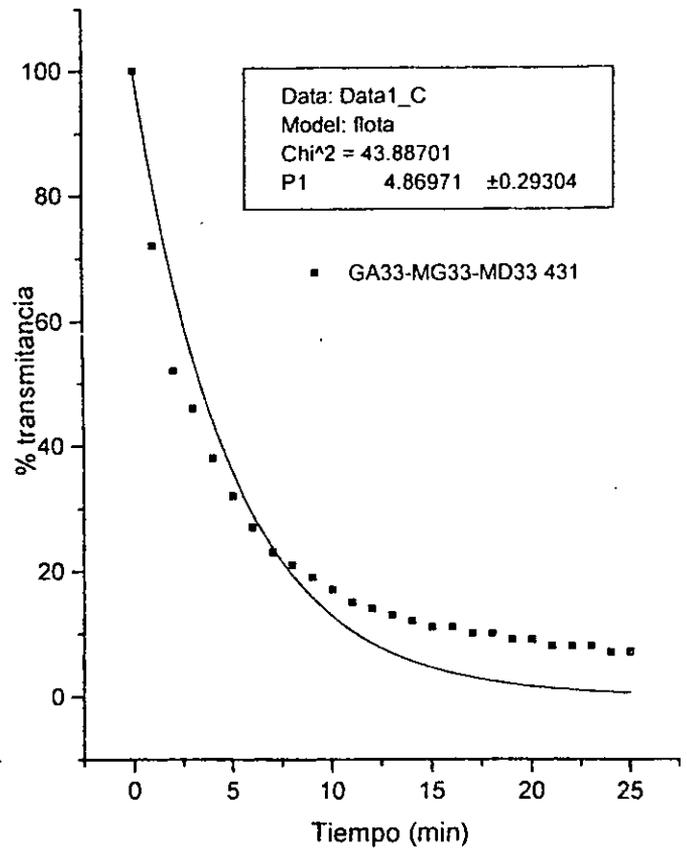
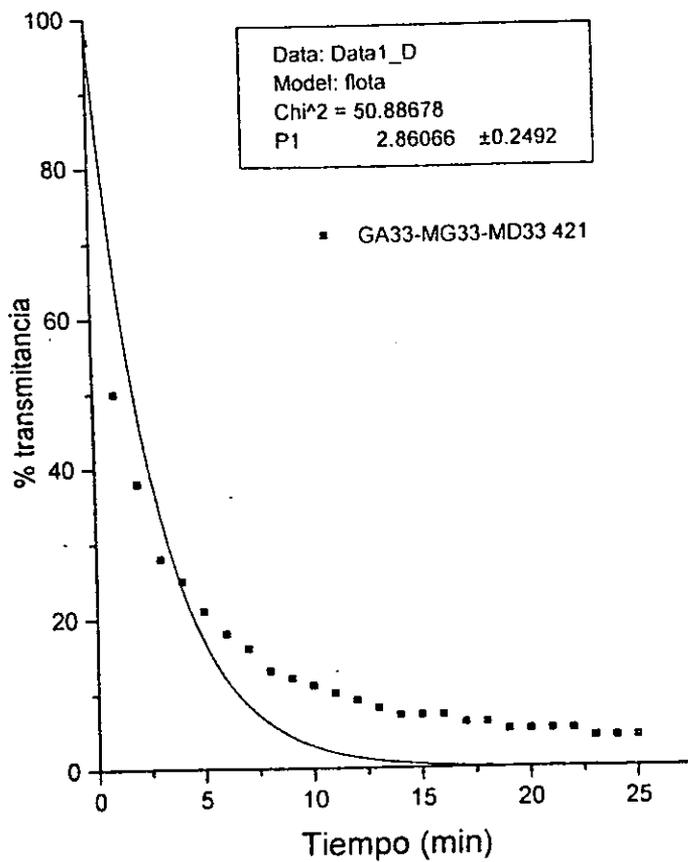


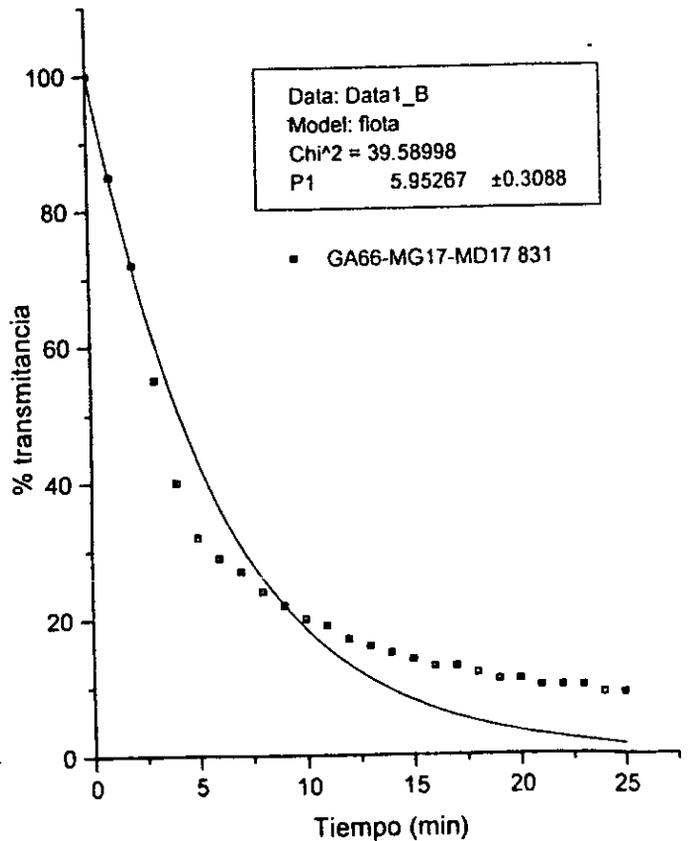
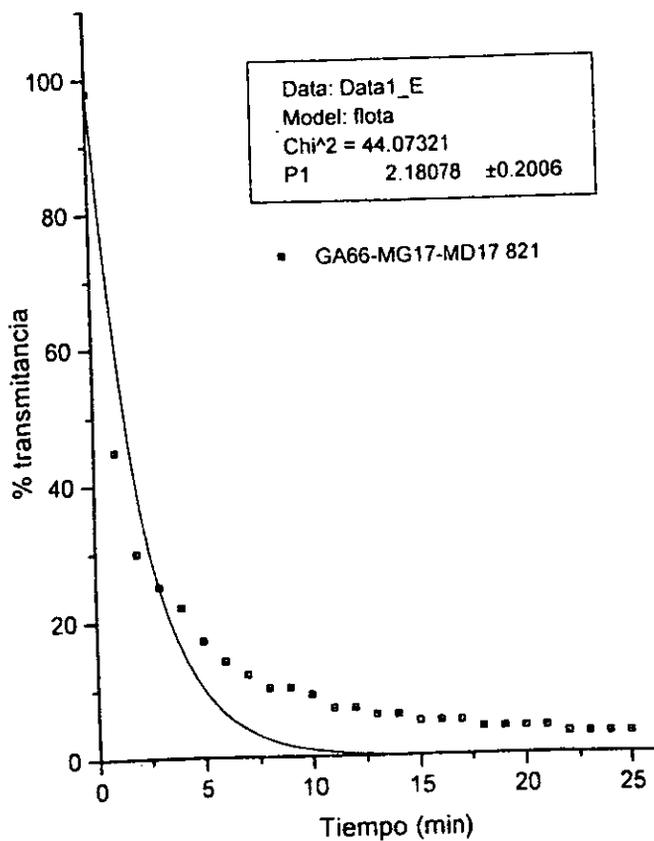
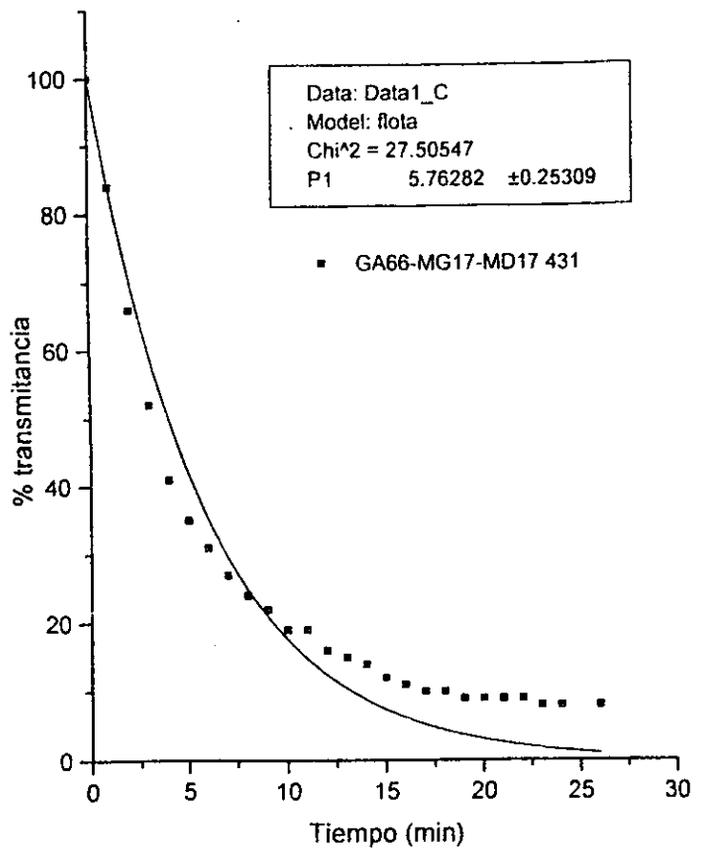
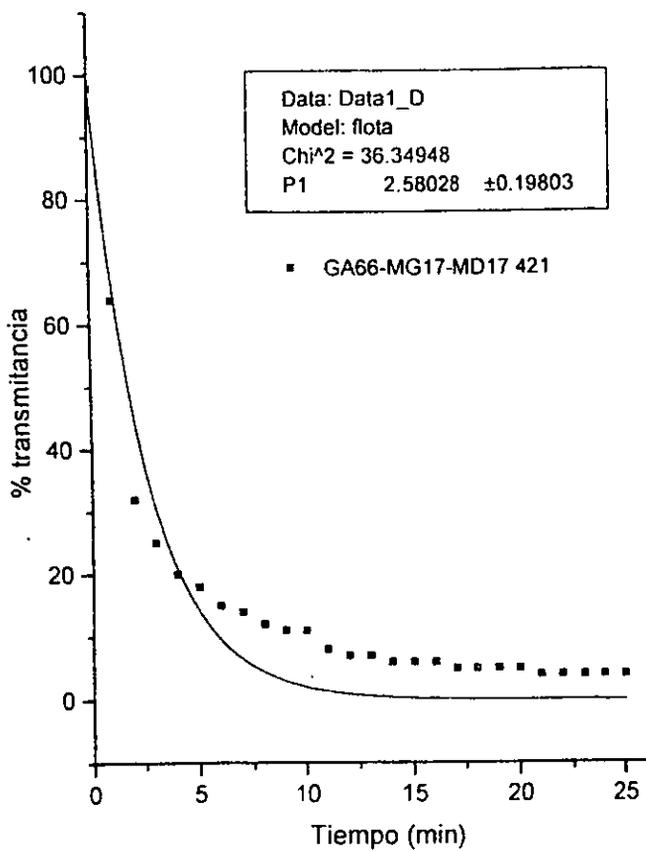


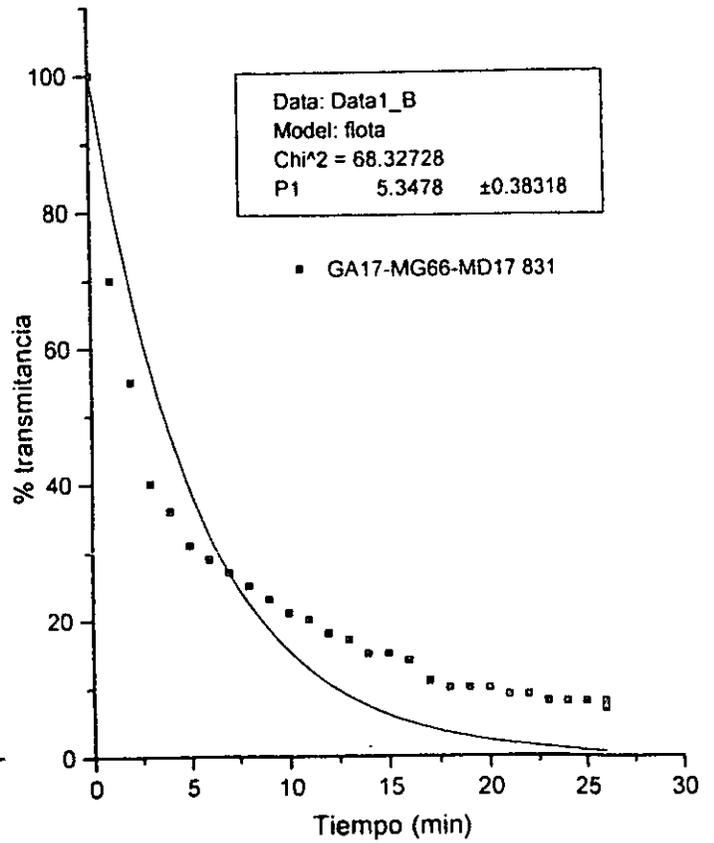
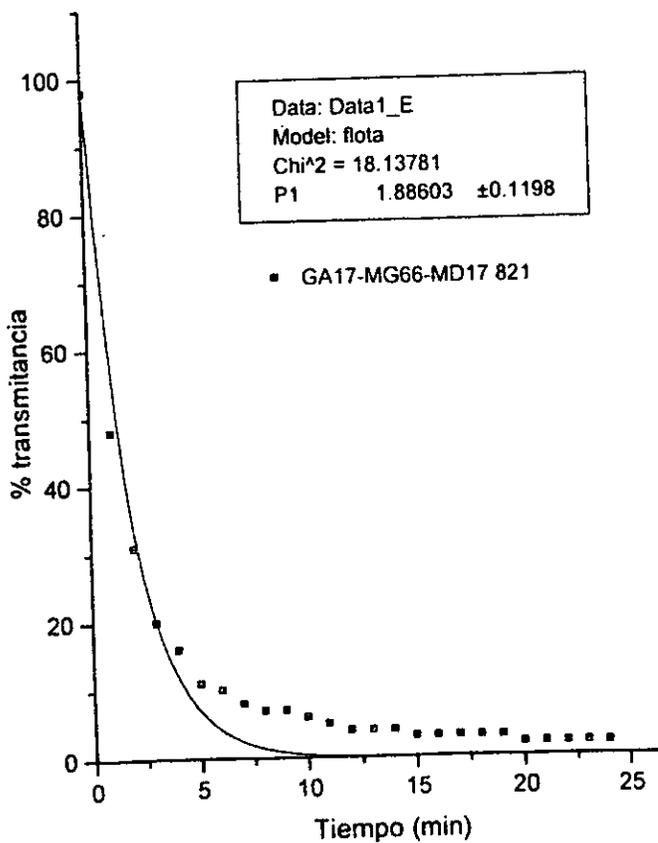
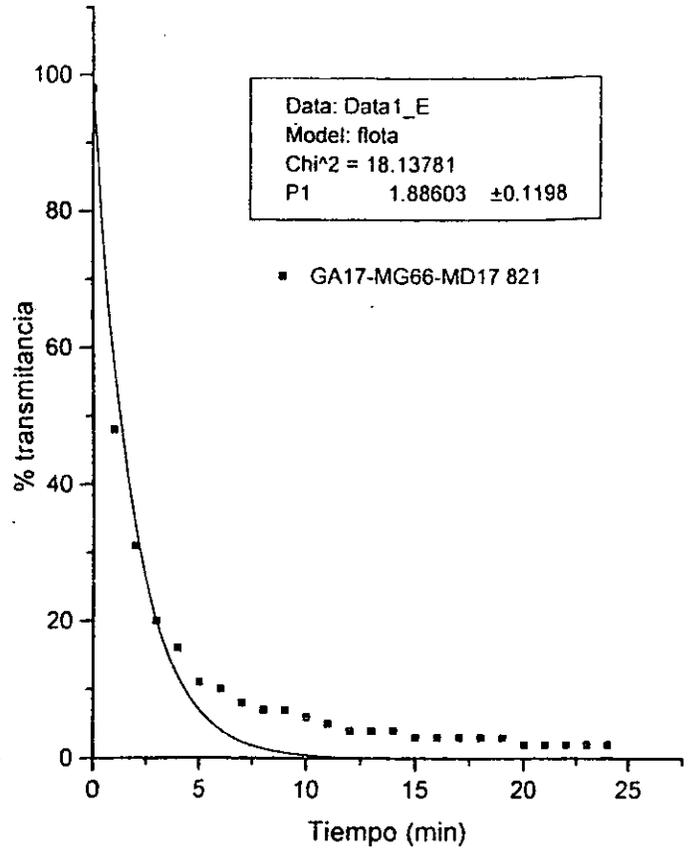
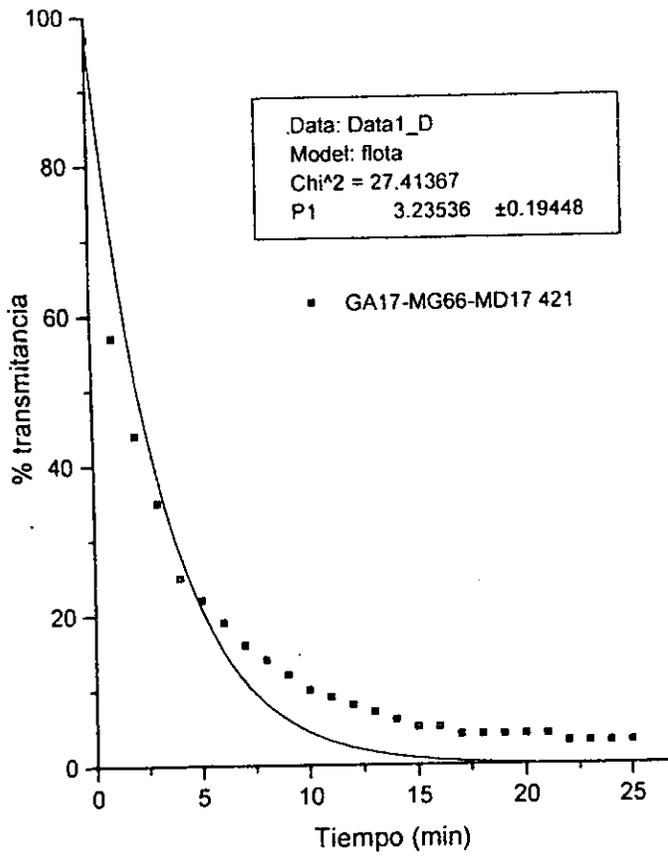


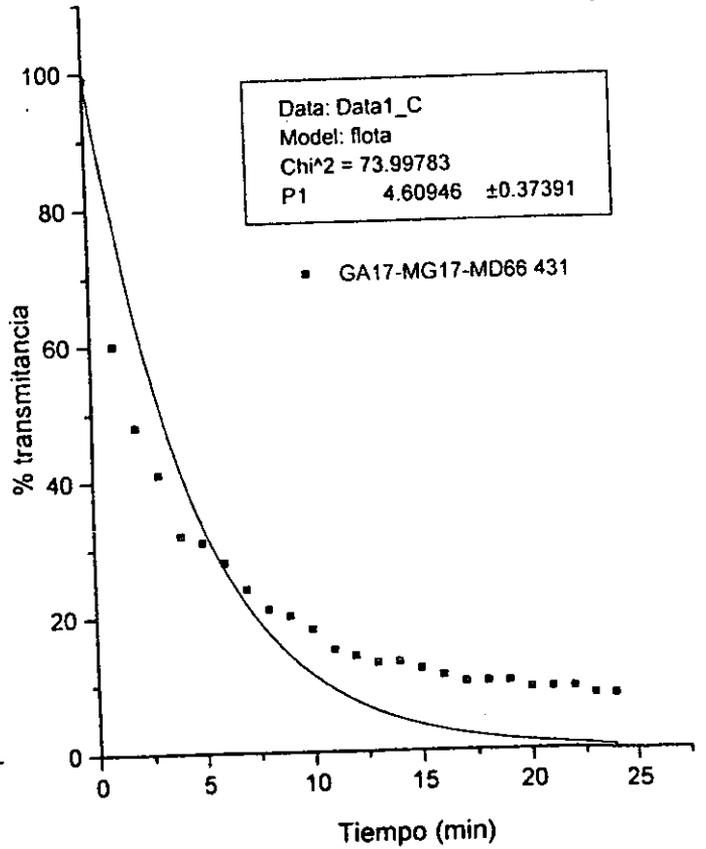
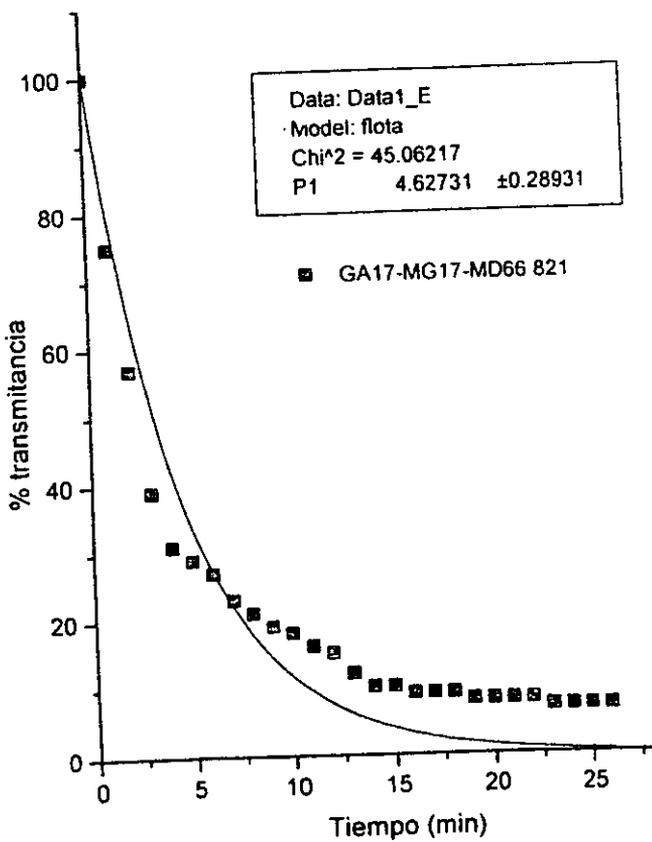
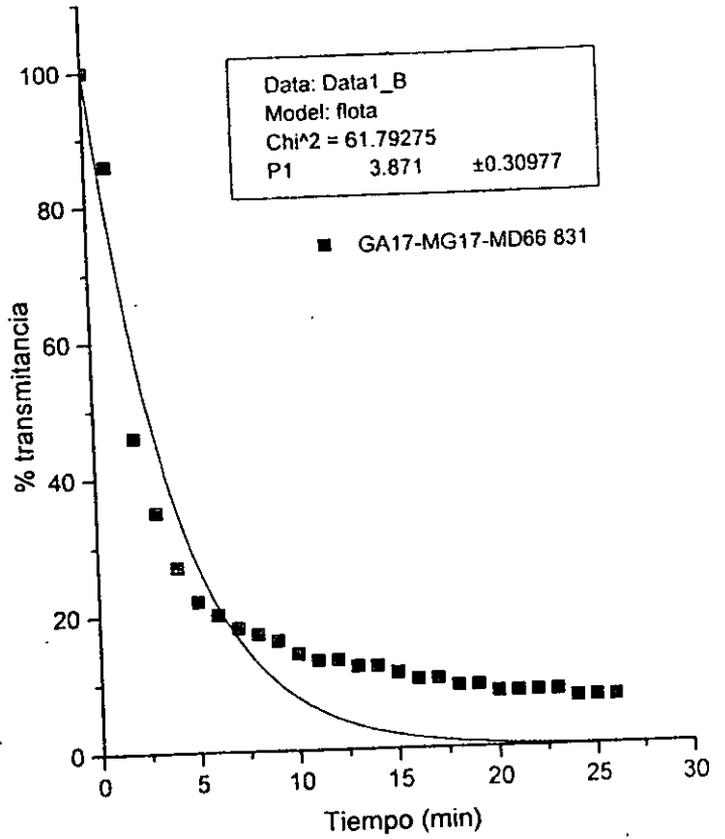
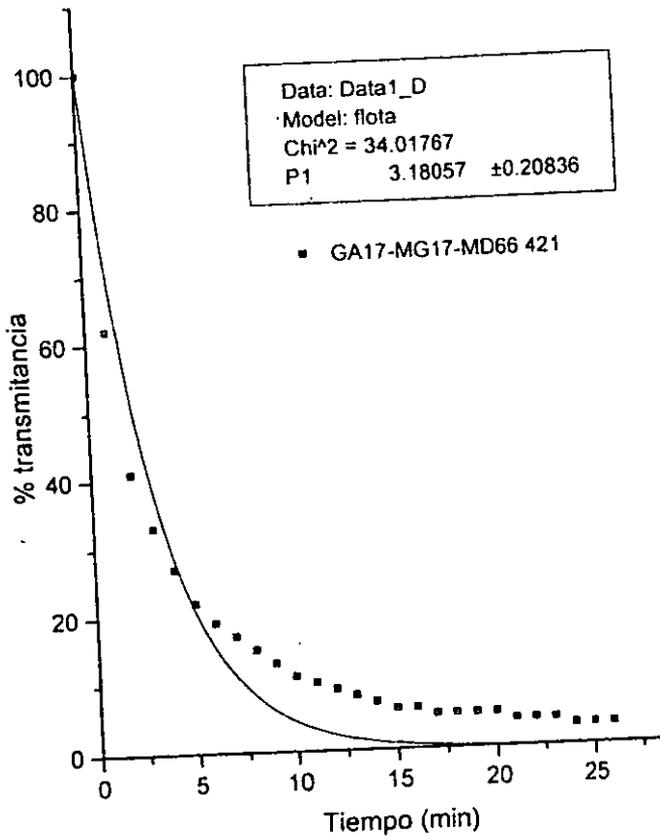












APÉNDICE 5
Desarrollo matemático para la resolución de la ecuación de difusión

Análisis de la transferencia de masa a través de la ecuación de difusión

La ecuación de difusión tiene la forma

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho}{\partial y^2}$$

si se desea expresar en peso se tiene que

$$w_i = \frac{\rho_i}{\sum_{i=1}^c \rho_i}$$

como

$$\rho = \sum_{i=1}^c \rho_i$$

por tanto

$$w_i = \frac{\rho_i}{\rho}$$

entonces la ecuación de difusión puede escribirse como

$$\frac{\partial \rho w_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho w_i}{\partial y^2}$$

si ρ es aproximadamente constante, entonces

$$\frac{\rho \partial w_i}{\partial t} = D \rho \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2}$$

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2}$$

Se postula que el coeficiente de difusión es una función del peso molecular, ya que tratándose de polímeros, el cambio conformacional de éstos debido a la hidratación, supone cierto grado de interacción entre las cadenas poliméricas lo que tiene como consecuencia que la variación en el coeficiente de difusión esté asociado fuertemente al peso molecular (Ju y cols, 1995a; 1995b)

$$D = aM^b$$

$$D_{(0)} = aM_{(0)}^b$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} D = aM_{\infty}^b$$

En disoluciones poliméricas la distribución de pesos moleculares permite definir la movilidad de las especies. El peso molecular obedece a una relación del tipo:

$$M = (M_0 - M_{\infty})e^{-\beta t} + M_{\infty}$$

La difusividad toma la forma de :

$$D = a \{ (M_0 - M_{\infty})e^{-\beta t} + M_{\infty} \}^b$$

Al sustituir en la ecuación de difusión se establece el modelo siguiente:

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = a \{ (M_0 - M_{\infty})e^{-\beta t} + M_{\infty} \}^b \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2}$$

Como condiciones inicial y de frontera se tienen:

$$\begin{array}{lll} c_i & t = 0 & w_i = 0 \\ c_{F1} & y = R & w_i = w_i^{eq} \\ c_{F2} & y = 0 & \frac{\partial w_i}{\partial y} = 0 \end{array}$$

Se plantean las variables adimensionales siguientes:

$$\theta = \frac{w_i - w_i^{eq}}{w_{i0} - w_i^{eq}}$$

$$\tau = \frac{tD_0}{R^2} = \frac{t}{R^2} aM_0^b$$

donde R^2 equivale a una longitud característica.

$$\varsigma = \frac{y}{R}$$

Escribiendo la ecuación de difusión en términos de las variables adimensionales: para la primera derivada con respecto al tiempo y aplicando la regla de la cadena.

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = \frac{\partial w_i}{\partial \theta} \frac{\partial \theta}{\partial \tau} \frac{\partial \tau}{\partial t}$$

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = \frac{(w_{i0} - w_i^{eq}) D_0}{R^2} \frac{\partial \theta}{\partial \tau}$$

Se tiene del modelo establecido que

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2}$$

$$\frac{\partial w_i}{\partial t} = \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R^2} a M_0^b$$

La derivada con respecto a la posición:

$$\frac{\partial w_i}{\partial y} = \frac{\partial w_i}{\partial \theta} \frac{\partial \theta}{\partial \zeta} \frac{\partial \zeta}{\partial y}$$

$$\frac{\partial w_i}{\partial y} = (w_i - w_i^{eq}) \frac{1}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \zeta}$$

$$\frac{\partial}{\partial y} \left(\frac{\partial w_i}{\partial y} \right) = \frac{\partial \zeta}{\partial y} \frac{\partial}{\partial \zeta} \left[(w_i - w_i^{eq}) \frac{1}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \zeta} \right]$$

$$\frac{\partial^2 w_i}{\partial y^2} = \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R^2} \frac{\partial^2 \theta}{\partial \zeta^2}$$

Sustituyendo en el modelo

$$\frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R^2} a M_0^b \frac{\partial \theta}{\partial \tau} = a [(M_0 - M_\infty) e^{-\beta t} + M_\infty]^b \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R^2} \frac{\partial^2 \theta}{\partial \zeta^2}$$

rearrreglando y dividiendo entre $a M_0^b$

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = \frac{[(M_0 - M_\infty) e^{-\beta t} + M_\infty]^b}{M_0^b} \frac{\partial^2 \theta}{\partial \zeta^2}$$

de la definición de la variable adimensional del tiempo se tiene que

$$t = \frac{\tau R^2}{a M_0^b}$$

así que

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = \frac{\left[(M_0 - M_\infty) e^{-\beta \frac{\tau R^2}{a M_0^b}} + M_\infty \right]^b}{M_0^b} \frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2}$$

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = \left\{ \left(1 - \frac{M_\infty}{M_0} \right) e^{-\beta \frac{\tau R^2}{a M_0^b}} + \frac{M_\infty}{M_0} \right\}^b \frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2}$$

de las condiciones de frontera $\tau = 0, \theta = 1$
 $\xi = 1, \theta = 0$
 $\xi = 0, \frac{\partial \theta}{\partial \xi} = 0$

tendremos que el **modelo adimensional** queda descrito por

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = f(\tau) \frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2}$$

donde $f(\tau)$ se ha definido, para simplificar la expresión, como

$$f(\tau) = \left\{ \left(1 - \frac{M_\infty}{M_0} \right) e^{-\beta \frac{\tau R^2}{a M_0^b}} + \frac{M_\infty}{M_0} \right\}^b$$

Para la resolución del modelo adimensional se propone el método por separación de variables

$$\theta = ZT = Z(\xi)T(\tau)$$

Se calculan las derivadas respectivas para luego sustituir en la ecuación de difusión:

$$\frac{\partial \theta}{\partial \tau} = \frac{\partial}{\partial \tau} (ZT) = Z \frac{\partial T}{\partial \tau}$$

$$\frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2} = \frac{\partial}{\partial \xi} \left(\frac{\partial \theta}{\partial \xi} \right) = \frac{\partial}{\partial \xi} \left(\frac{\partial(ZT)}{\partial \xi} \right)$$

$$\frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2} = T \frac{\partial^2 \theta}{\partial \xi^2}$$

entonces

$$Z \frac{\partial T}{\partial \tau} = f(\tau) T \frac{\partial^2 Z}{\partial \xi^2}$$

dividiendo ambos lados de la ecuación entre $f(\tau) \frac{T}{Z}$

$$\frac{1}{f(\tau) T} \frac{\partial T}{\partial \tau} = \frac{1}{Z} \frac{\partial^2 Z}{\partial \xi^2}$$

Como la dependencia es de una variable, las derivadas parciales pueden escribirse como ordinarias

$$\frac{1}{f(\tau) T} \frac{dT}{d\tau} = \frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{d\xi^2}$$

Al tratarse de dos funciones con diferente variable, pero iguales entre sí, entonces es igual a una constante

$$\frac{1}{f(\tau) T} \frac{dT}{d\tau} = \frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{d\xi^2} = -\lambda^2$$

$$\frac{1}{f(\tau) T} \frac{dT}{d\tau} = -\lambda^2$$

$$\frac{dT}{d\tau} + \lambda^2 f(\tau) T = 0$$

ésta es una ecuación del tipo

$$\frac{dy}{dx} + P(x)y = Q(x)$$

para resolverla se utiliza un factor de integración de la forma:

$$\frac{d}{dx} \left[e^{\int P(x) dx} y \right] = Q(x) e^{\int P(x) dx}$$

Se tiene entonces que

$$\frac{dT}{d\tau} = -\lambda^2 f(\tau) T$$

$$\int \frac{dT}{T} = -\lambda^2 \int f(\tau) d\tau$$

$$\ln T = -\lambda^2 \int f(\tau) d\tau + \ln c$$

$$\ln \frac{T}{c} = -\lambda^2 \int f(\tau) d\tau$$

por lo tanto

$$T = c e^{-\lambda^2 \int f(\tau) d\tau}$$

Ahora

$$\frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{d\xi^2} = -\lambda^2$$

$$\frac{d^2 Z}{d\xi^2} + \lambda^2 Z = 0$$

$$Z = c_1 e^{i\lambda\xi} + c_2 e^{-i\lambda\xi}$$

$$Z = c_1 \cos \lambda\xi + c_2 \operatorname{sen} \lambda\xi$$

Sustituyendo la condición inicial de frontera, $\theta = 0, \xi = 1$ (para toda τ), en la solución anterior se tiene

$$Z = c_1 \cos \lambda(1) + c_2 \operatorname{sen} \lambda(1) = 0$$

Aplicando la segunda condición de frontera $\xi = 0$, $\frac{\partial \theta}{\partial \xi} = 0$, $\frac{\partial Z}{\partial \xi} = 0$

$$\frac{\partial Z}{\partial \xi} = -c_1 \lambda \operatorname{sen} \lambda \xi + c_2 \lambda \cos \lambda \xi$$

$$-c_1 \lambda \operatorname{sen} \lambda \xi + c_2 \lambda \cos \lambda \xi = 0$$

$$-c_1 \lambda \operatorname{sen} \lambda(0) + c_2 \lambda \cos \lambda(0) = 0$$

$$c_2 \lambda = 0$$

$$c_2 = 0$$

Sustituyendo el valor de $c_2 = 0$ en la ecuación de Z

$$c_1 \cos \lambda = 0$$

pero cuando

$$\cos \lambda = 0$$

se cumple para todos los valores de $\lambda = (2n + 1) \frac{\pi}{2}$, entonces la solución de Z sería

$$Z_n = c_n \cos \left[(2n + 1) \frac{\pi}{2} \xi \right]$$

Se tendrían una gran serie de soluciones, por el principio de superposición, la suma de todas las soluciones es también una solución de la ecuación, así que

$$Z = \sum_{n=0}^{\infty} c_n \cos \left[(2n + 1) \frac{\pi}{2} \xi \right]$$

Anteriormente se tenía que

$$\theta = TZ$$

$$\theta = \sum_{n=0}^{\infty} c_n \cos \left[(2n + 1) \frac{\pi}{2} \xi \right] e^{-\lambda^2 \int f(\tau) d\tau}$$

Definiendo una $A_n = c_n c$ podemos escribir que

$$\theta = \sum_{n=0}^{\infty} A_n \cos \left[(2n+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] e^{-\lambda^2 \int f(\tau) d\tau}$$

Ahora faltaría por evaluar el valor de las constantes.
De la condición de frontera $\tau = 0, \theta = 1$, al sustituir se tiene

$$1 = \sum_{n=0}^{\infty} A_n \cos (2n+1) \frac{\pi}{2} \xi$$

por el principio de ortogonalidad de la función cos, se procede a evaluar el valor de las constantes:

$$\sum_{n=0}^{\infty} A_n \left[\cos (2n+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] \cos \left[(2m+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] = \cos \left[\cos (2m+1) \frac{\pi}{2} \xi \right]$$

si se integran ambos lados de la ecuación, comenzando con el término del lado izquierdo se tiene

$$\sum_{n=0}^{\infty} A_n \int \cos \left[(2n+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] \cos \left[(2m+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] d\xi$$

desarrollando la serie y considerando que $\int \cos n\xi \cos m \, d\xi \begin{cases} 0 & \text{si } n \neq m \\ 1/2 & \text{si } n=m \end{cases}$

$$A_n \int_0^1 \cos^2 \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \xi \right] d\xi$$

$$A_n \left\{ \int_0^1 \frac{1}{2} d\xi + \frac{1}{2} \int_0^1 \cos \left[(2n+1) \frac{\pi}{2} \xi \right] d\xi \right\}$$

integrando se tiene

$$A_n \left\{ \frac{1}{2} \xi + \frac{1}{2(2n+1)\pi} \operatorname{sen} (2n+1) \pi \xi \right\}_0^1$$

la expresión anterior corresponde al lado izquierdo de la ecuación:
La integral del lado derecho sería

$$\int_0^1 \cos \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \xi \right] d\xi = \frac{2}{(2n+1)\pi} \operatorname{sen} \frac{(2n+1)}{2} \pi$$

igualando el lado izquierdo con el derecho y despejando An se tiene

$$An = \frac{\frac{2}{(2n+1)\pi} \operatorname{sen} \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \right]}{\frac{1}{2} + \frac{\operatorname{sen}}{2(2n+1)\pi} [(2n+1)\pi]}$$

$$An = \frac{\frac{2}{2} \frac{2}{(2n+1)\pi} \operatorname{sen} \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \right]}{\frac{(2n+1)\pi}{2(2n+1)\pi} + \frac{\operatorname{sen}(2n+1)\pi}{2(2n+1)\pi}}$$

$$An = \frac{4 \operatorname{sen} \left[\frac{(2n+1)\pi}{2} \right]}{(2n+1)\pi + \operatorname{sen} [(2n+1)\pi]}$$

como $\operatorname{sen}(2n+1) = 0$

$$An = \frac{4 \operatorname{sen} \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \right]}{(2n+1)\pi}$$

Entonces, la solución es

$$\theta = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4 \operatorname{sen} \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \right]}{(2n+1)\pi} \cos \left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \xi \right] e^{-\left[\frac{(2n+1)}{2} \pi \right]^2 \int_0^{\tau} f(\tau) d\tau}$$

donde

$$f(\tau) = \left\{ \left(1 - \frac{M_{\infty}}{M_0} \right) e^{-\beta \frac{R^2}{\alpha M_0^b} \tau} + \frac{M_{\infty}}{M_0} \right\}^b$$

para valores de τ y considerando que $\tau = \frac{\alpha M_0^b}{R^2}$

Ahora se va a tomar sólo el primer término de la serie, esto es $n=0$

$$\theta = \frac{4 \operatorname{sen} \frac{\pi}{2}}{\pi} \cos \left[\frac{\pi}{2} \xi \right] e^{-\left(\frac{\pi}{2} \right)^2 \int_0^{\tau} f(\tau) d\tau}$$

como $\operatorname{sen} \frac{\pi}{2} = 1$, entonces tenemos la función solución de la ecuación de difusión, la cual describe un perfil adimensional de la fracción masa

$$\theta = \frac{4}{\pi} \cos \left(\frac{\pi}{2} \xi \right) e^{-\left(\frac{\pi}{2} \right)^2 \int_0^{\tau} f(\tau) d\tau}$$

Para el cálculo del flux del agente activo:

$$J_d|_{y=R} = -D \frac{\partial w_d}{\partial y} \Big|_{y=R}$$

como $\frac{\partial w_d}{\partial y} = \frac{w_{i0} - w_i^{eq}}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \xi}$ entonces se puede escribir

$$J_d = -D \frac{w_{i0} - w_i^{eq}}{R} \frac{\partial \theta}{\partial \xi} \Big|_{\xi=1}$$

derivando θ

$$\frac{\partial \theta}{\partial \xi} \Big|_{\xi=1} = -2 \operatorname{sen}^2\left(\frac{\pi}{2}\right) e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau}$$

como $\operatorname{sen}\frac{\pi}{2} = 1$

$$\frac{\partial \theta}{\partial \xi} \Big|_{\xi=1} = -2e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau}$$

sustituyendo en la ecuación del flux, tendríamos la expresión total del flux

$$J_d = 2D \frac{(w_{i0} - w_i^{eq})}{R} e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau}$$

Ahora, para calcular la disolución por partícula se tiene

$$\mathfrak{D}(t) = \int_0^t \int_0^A J_d dA_p dt$$

$$\mathfrak{D}(t) = A_p \int_0^t J_d dt$$

$$\mathfrak{D}(t) = 4\pi R^2 \int_0^t \left\{ 2D \left(\frac{w_{d0} - w_d^{eq}}{R} \right) e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau} \right\} dt$$

$$\mathfrak{D}(t) = 8\pi R^2 (w_{d0} - w_d^{eq}) \int_0^t \left\{ \left[(M_0 - M_\infty) e^{-\beta \frac{R^2}{aM_0^b} \tau} + \frac{M_\infty}{M_0} \right]^b e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau} \right\} dt$$

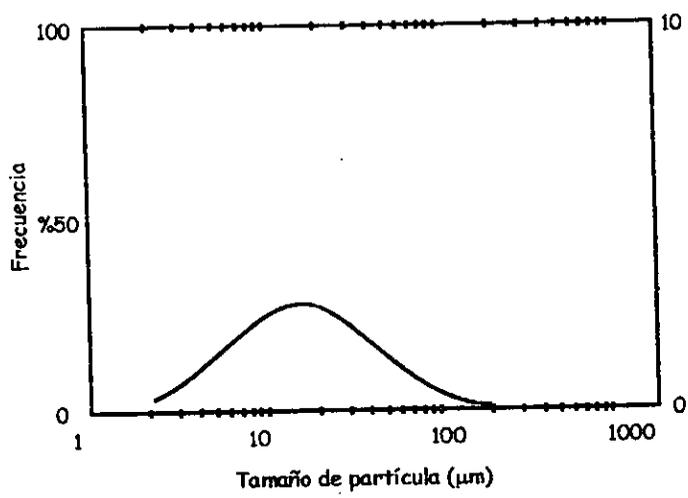
como $t = \frac{R^2}{aM_0^b} \tau$, $dt = \frac{R^2}{aM_0^b} d\tau$ entonces podemos cambiar la ecuación en función de τ y cambiar también los límites entre 0 y τ lo que genera la expresión que permite saber la disolución por partícula

$$\mathfrak{D}(t) = 8\pi R^2 (w_{d0} - w_d^{eq}) \int_0^\tau \left\{ \left[\frac{(M_0 - M_\infty) e^{-\beta \frac{R^2}{aM_0^b} \tau} + \frac{M_\infty}{M_0}}{aM_0^b} \right]^b e^{-\left(\frac{\pi}{2}\right)^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau} \right\} d\tau$$

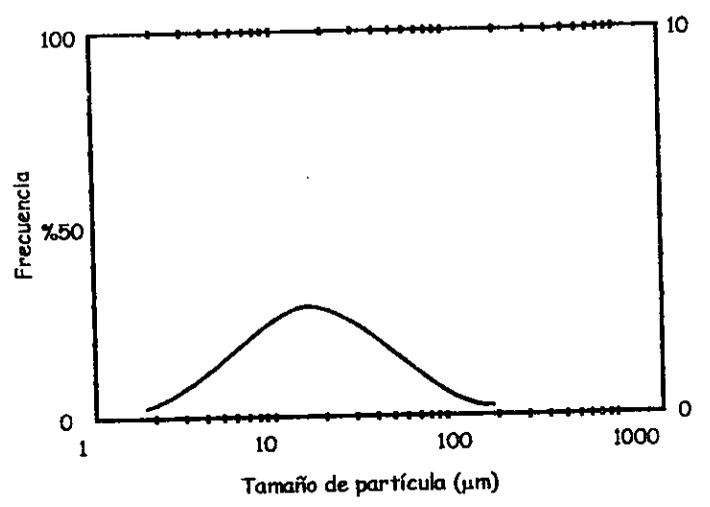
La disolución total \mathfrak{D}_T va a estar dada por

$$\mathfrak{D}_T = n_p V 8\pi R (w_{d0} - w_d^{eq}) \int_0^t \left\{ \left[(M_0 - M_\infty) e^{-\beta \frac{R^2}{\alpha M_0^b} \tau} + \frac{M_\infty}{M_0} \right]^b e^{-(\frac{\pi}{2})^2 \int_0^\tau f(\tau) d\tau} \right\} dt$$

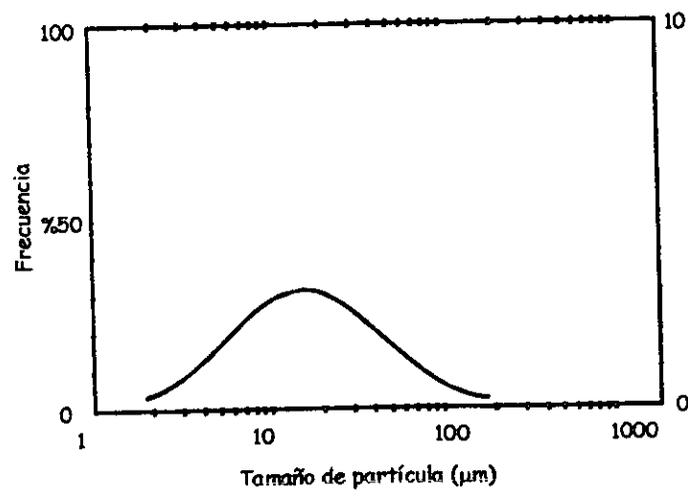
APÉNDICE 6
Distribución de tamaño de partícula de los tratamientos



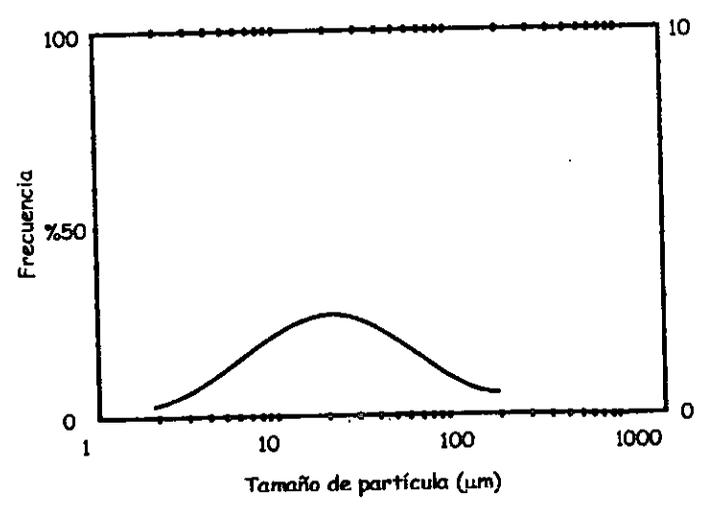
GA100 E-421
Media volumétrica 21.92 µm



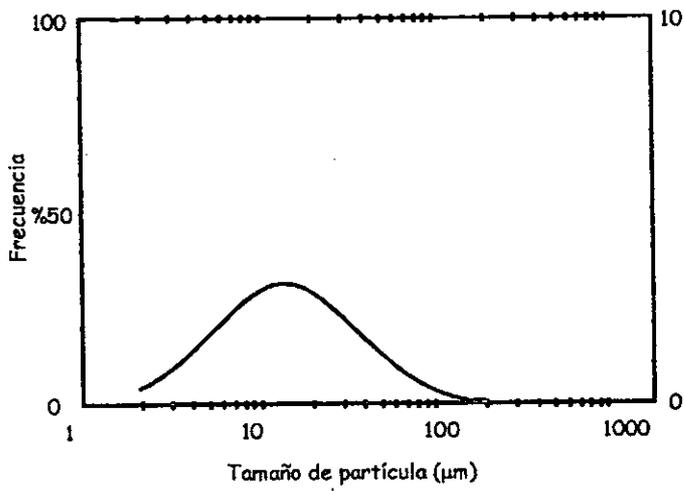
GA100 E-431
Media volumétrica 25.87 µm



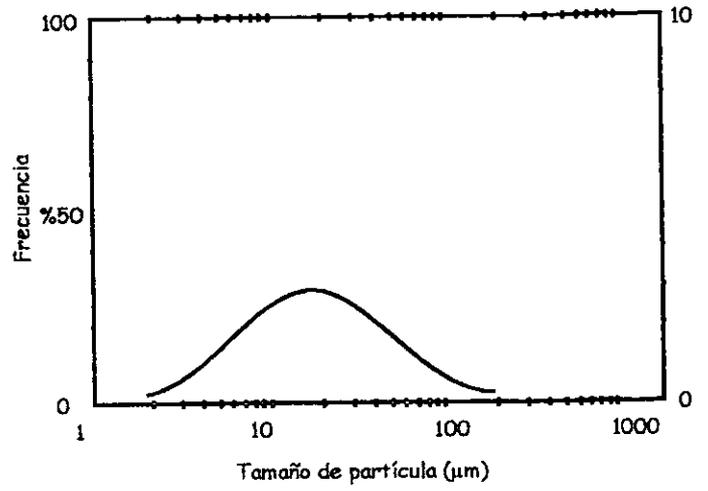
GA100 E-821
Media volumétrica 24.56 µm



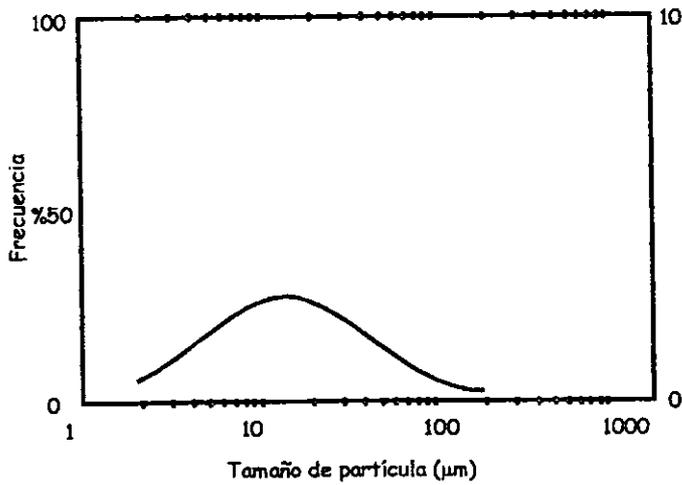
GA100 E-831
Media volumétrica 31.44 µm



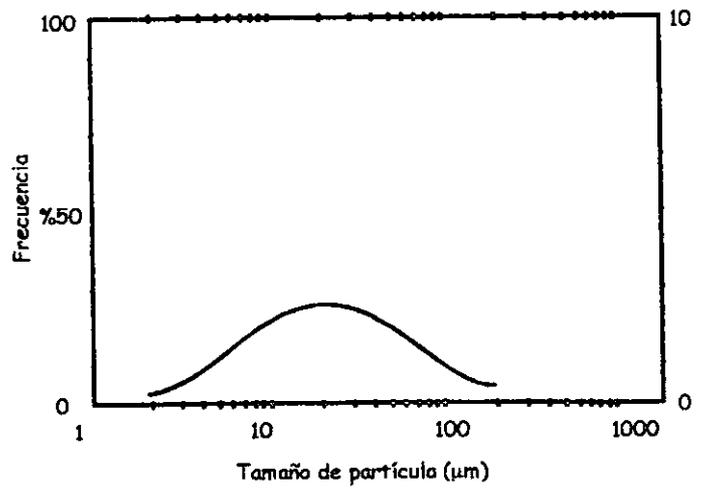
GM100 E-421
Media volumétrica 19.53 µm



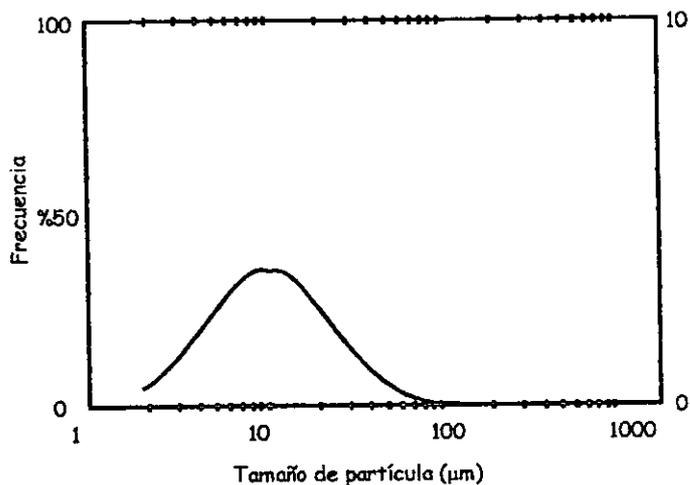
GM100 E-431
Media volumétrica 26.04 µm



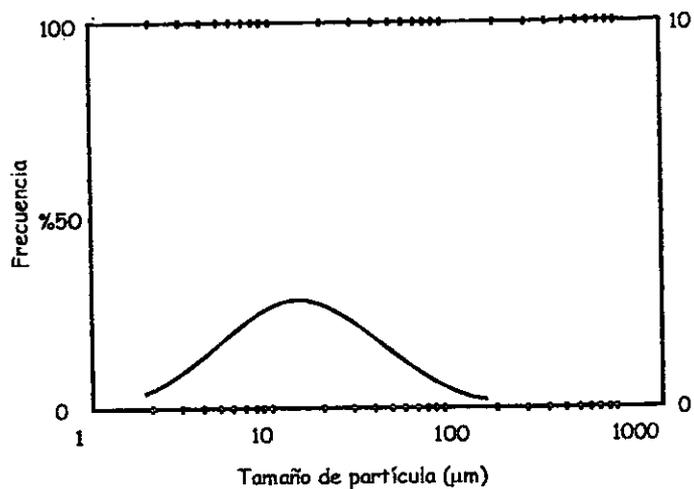
GM100 E-821
Media volumétrica 22.50 µm



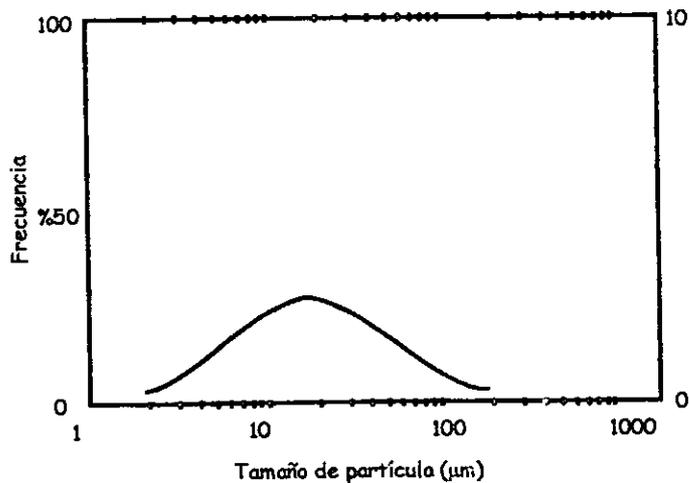
GM100 E-831
Media volumétrica 31.44 µm



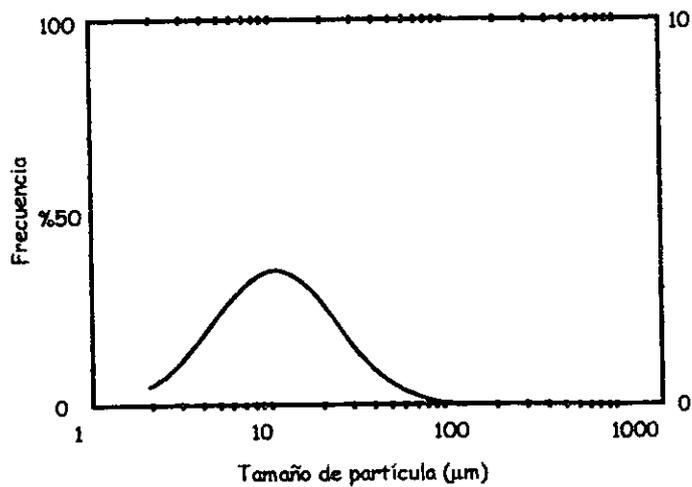
MD100 E-421
Media volumétrica 13.88 µm



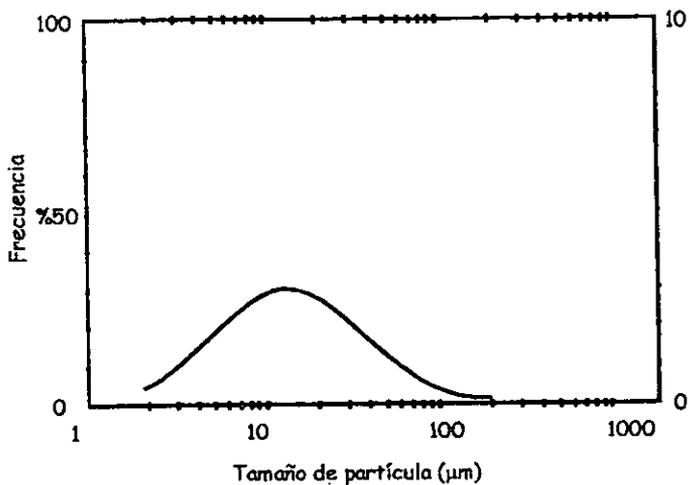
MD100 E-431
Media volumétrica 24.39 µm



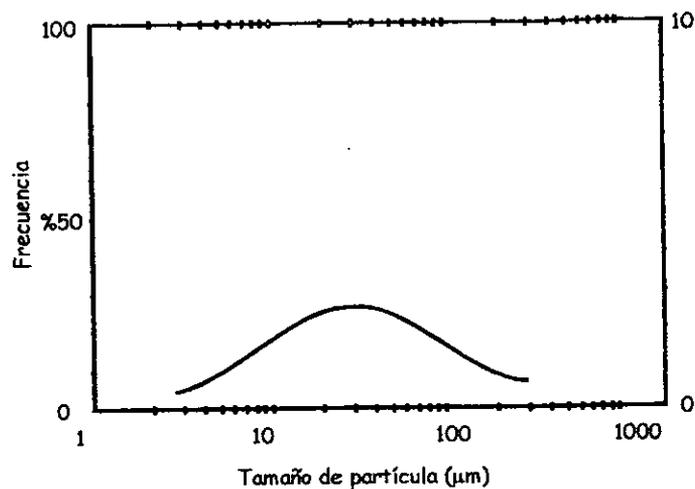
MD100 E-821
Media volumétrica 26.14 µm



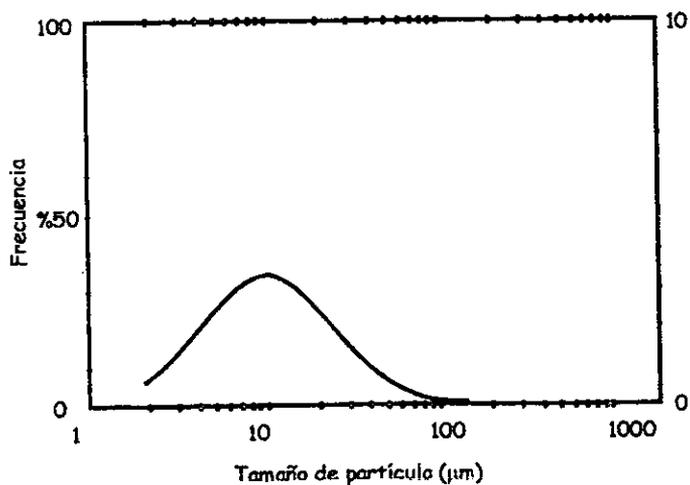
MD100 E-831
Media volumétrica 13.82 µm



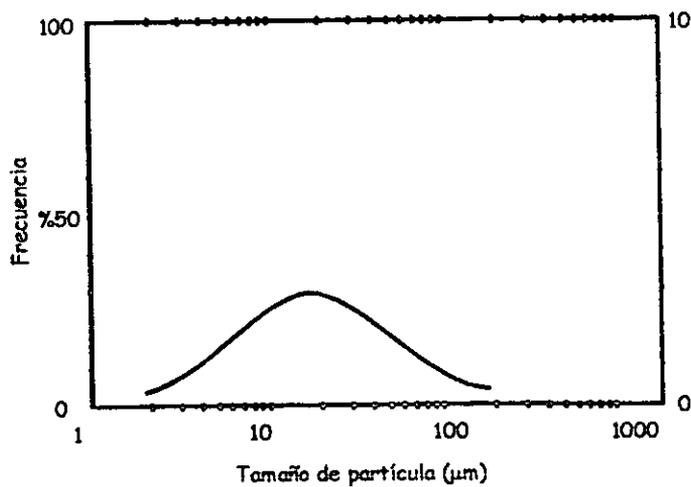
GA50-GM50 E-421
Media volumétrica 19.30 µm



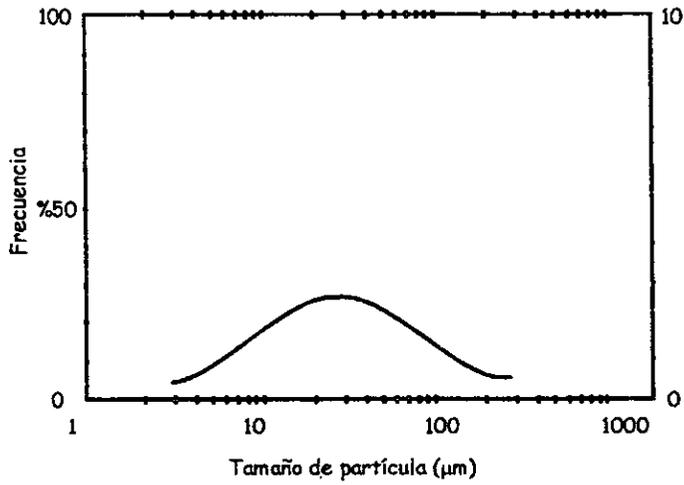
GA50-GM50 E-431
Media volumétrica 31.28 µm



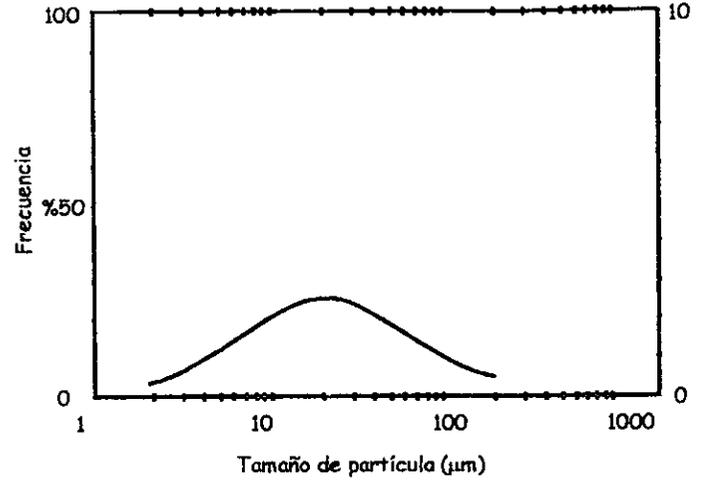
GA50-GM50 E-821
Media volumétrica 13.80 µm



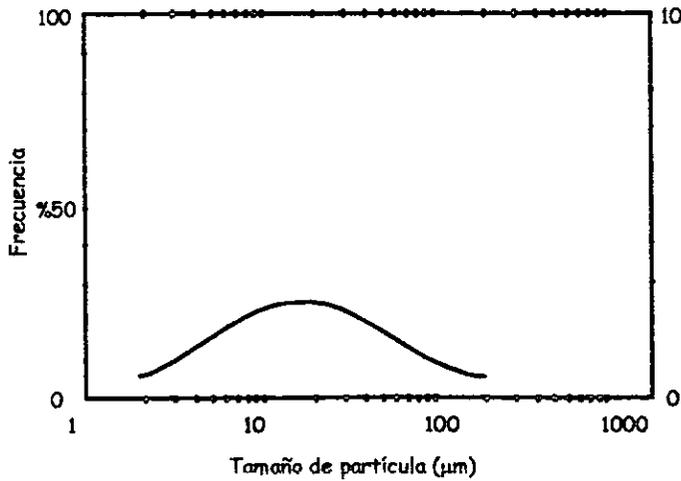
GA50-GM50 E-831
Media volumétrica 27.25 µm



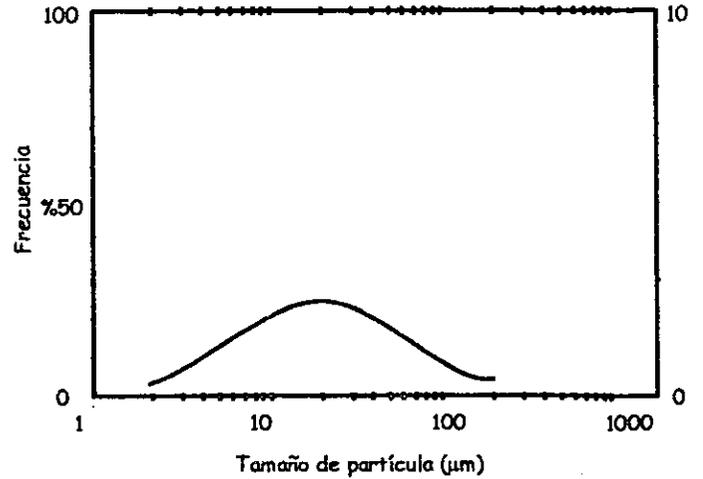
GA50-MD50 E-421
Media volumétrica 28.58 µm



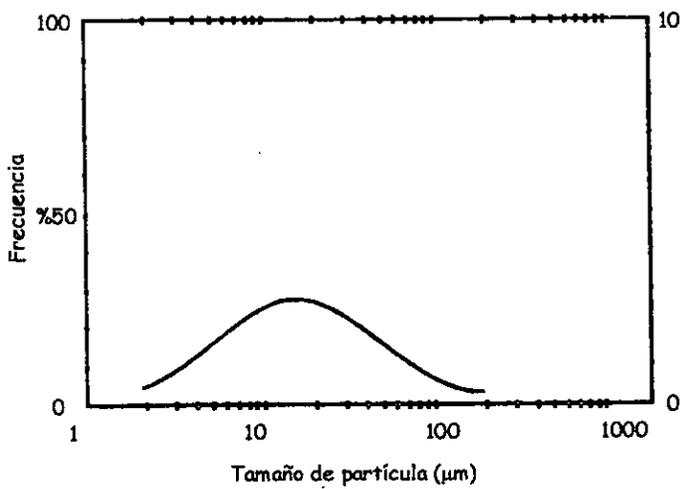
GA50-MD50 E-431
Media volumétrica 31.28 µm



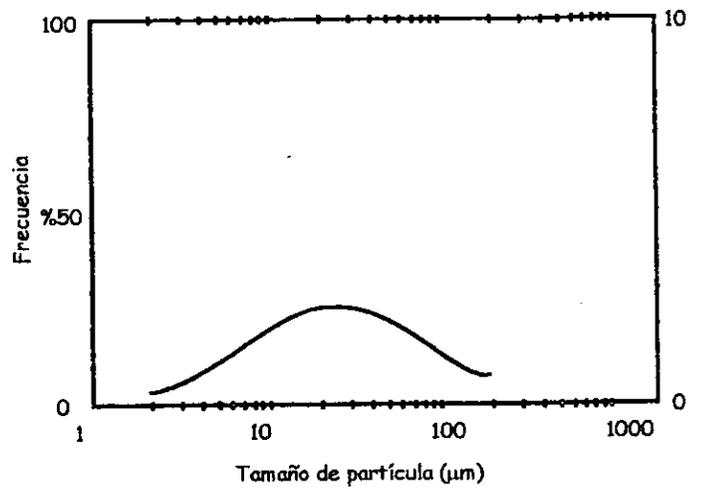
GA50-MD50 E-821
Media volumétrica 27.20 µm



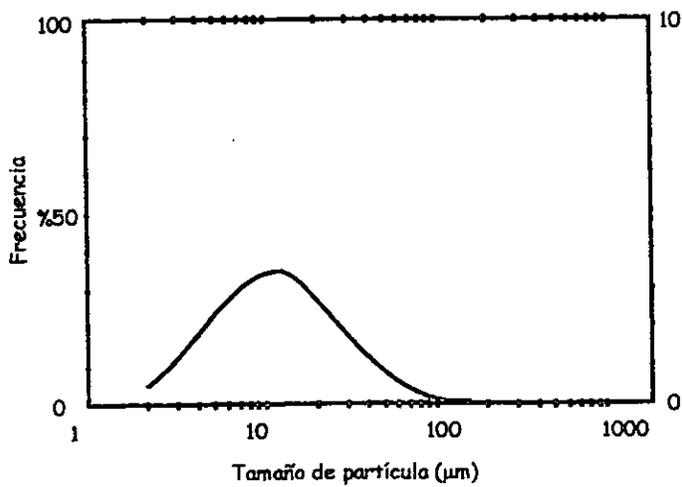
GA50-MD50 E-831
Media volumétrica 25.51 µm



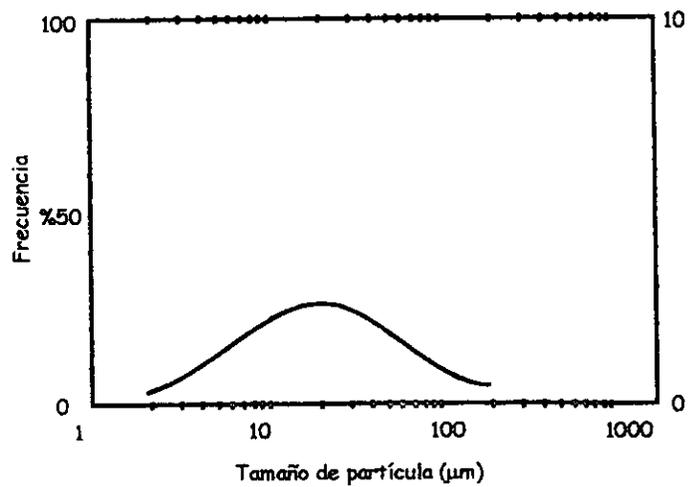
GM50-MD50 E-421
Media volumétrica 24.61 µm



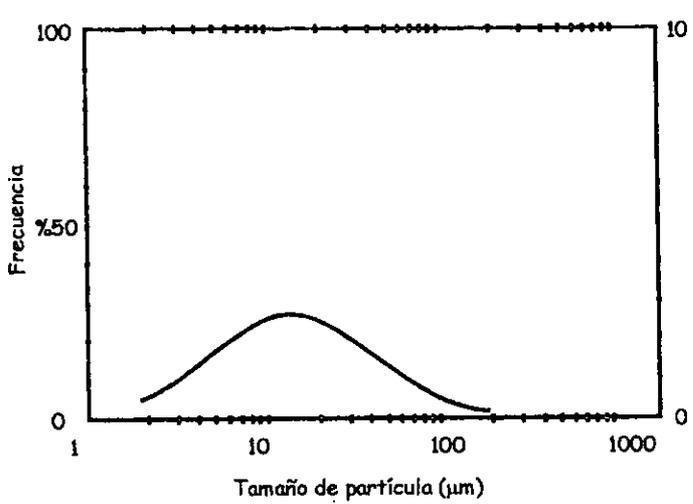
GM50-MD50 E-431
Media volumétrica 34.42 µm



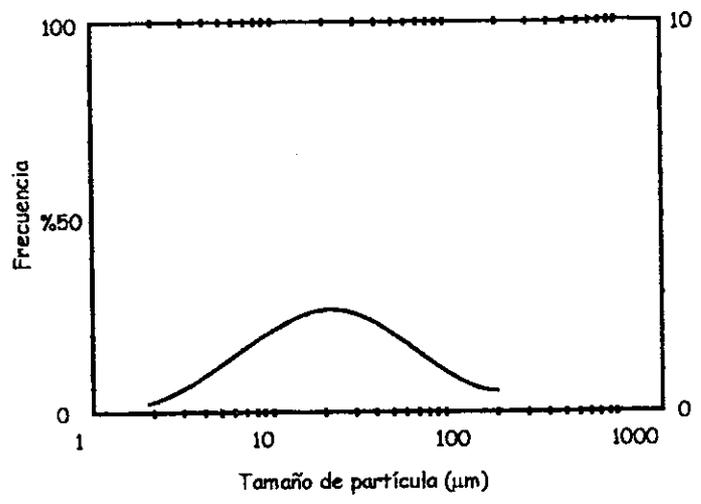
GM50-MD50 E-821
Media volumétrica 13.80 µm



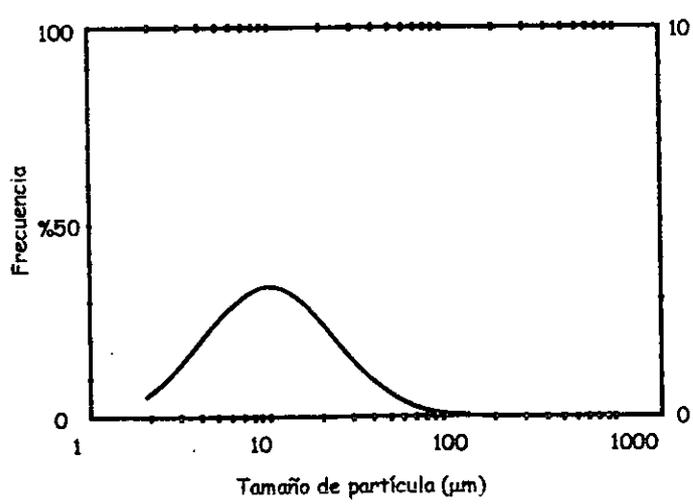
GM50-MD50 E-831
Media volumétrica 30.04 µm



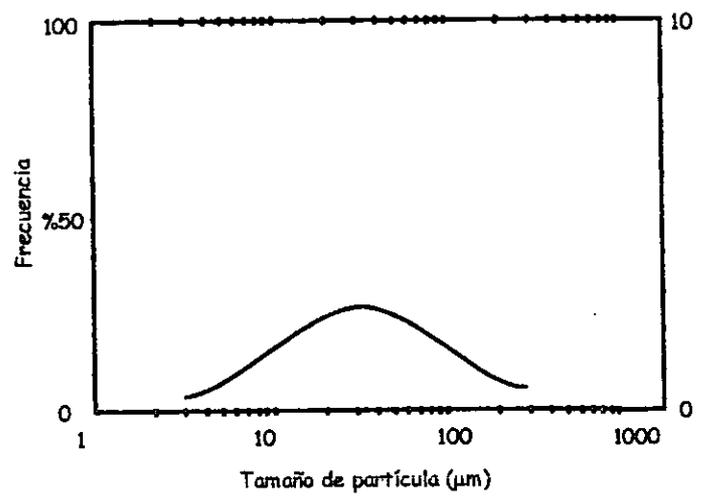
GA33-GM33-MD33 E-421
Media volumétrica 22.5 µm



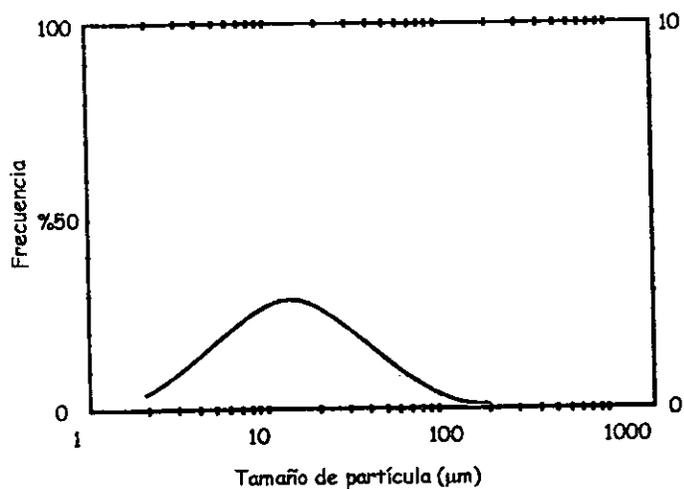
GA33-GM33-MD33 E-431
Media volumétrica 32.23 µm



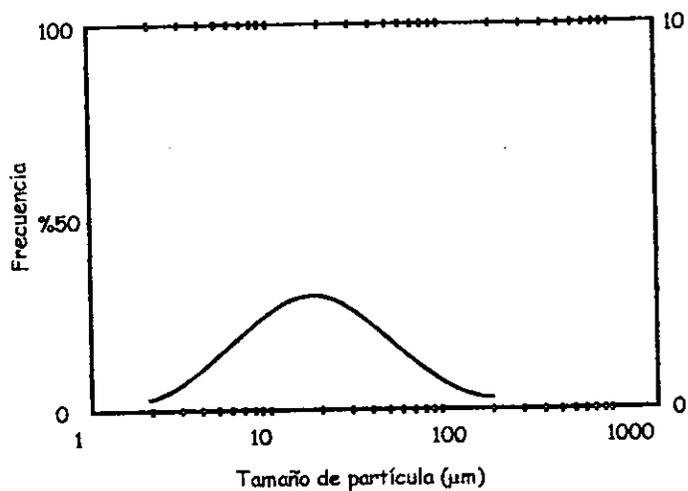
GA33-GM33-MD33 E-821
Media volumétrica 13.80 µm



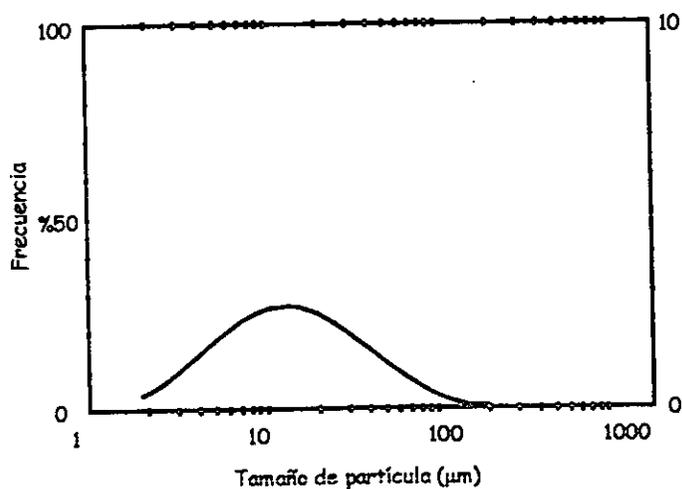
GA33-GM33-MD33 E-831
Media volumétrica 30.78 µm



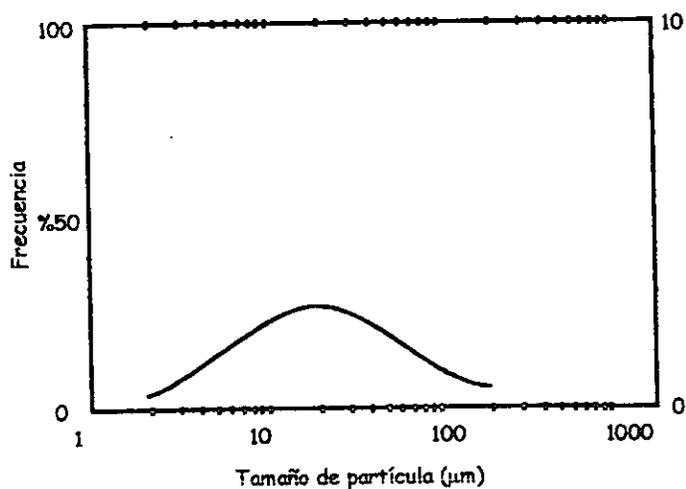
GA66-GM17-MD17 E-421
Media volumétrica 20.78 µm



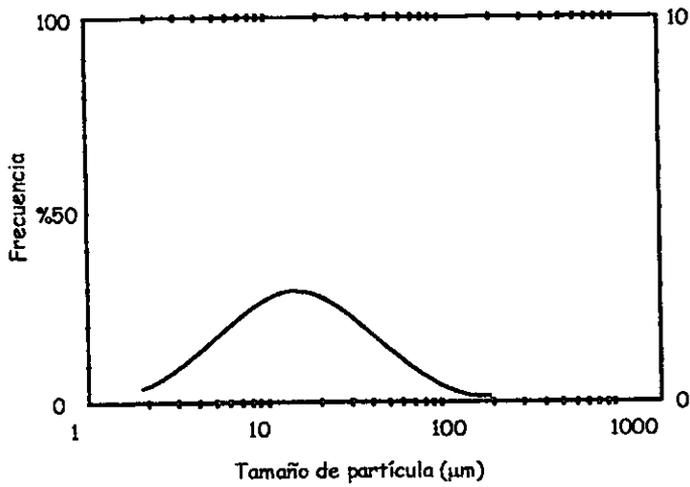
GA66-GM17-MD17 E-431
Media volumétrica 26.04 µm



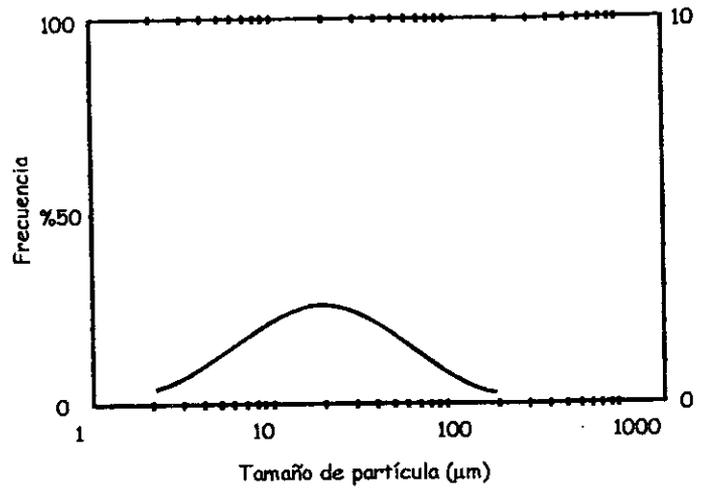
GA66-GM17-MD17 E-821
Media volumétrica 21.25 µm



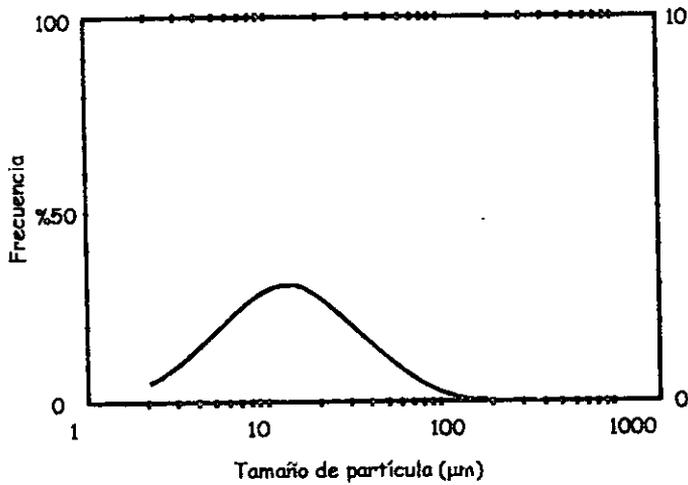
GA66-GM17-MD17 E-831
Media volumétrica 29.93 µm



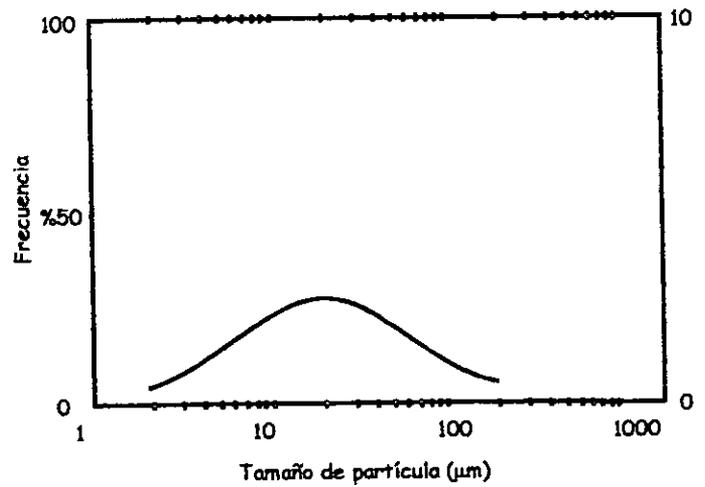
GA17-GM66-MD17 E-421
Media volumétrica 22.38 µm



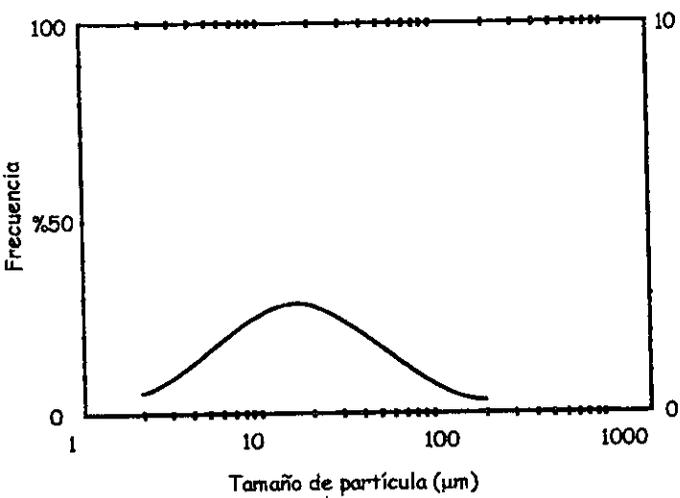
GA17-GM66-MD17 E-431
Media volumétrica 28.43 µm



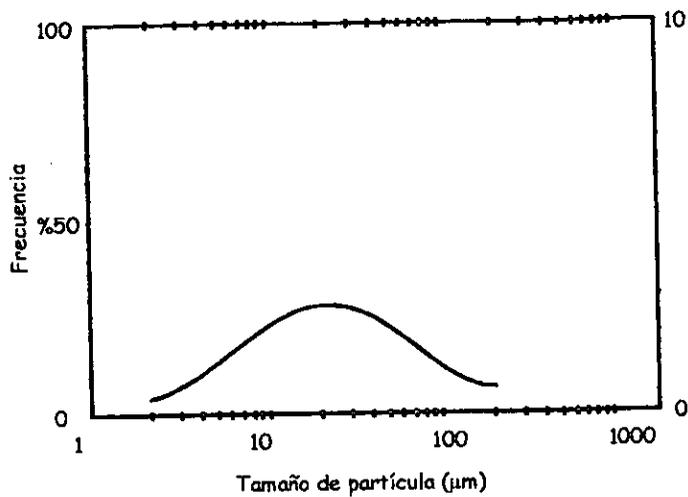
GA17-GM66-MD17 E-821
Media volumétrica 17.43 µm



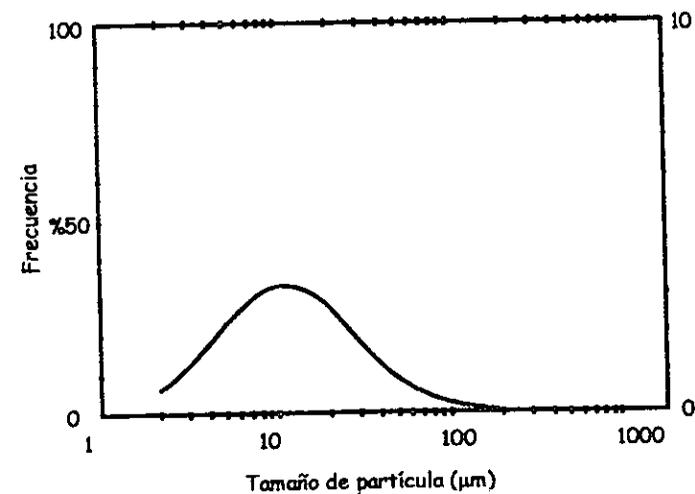
GA17-GM66-MD17 E-831
Media volumétrica 29.51 µm



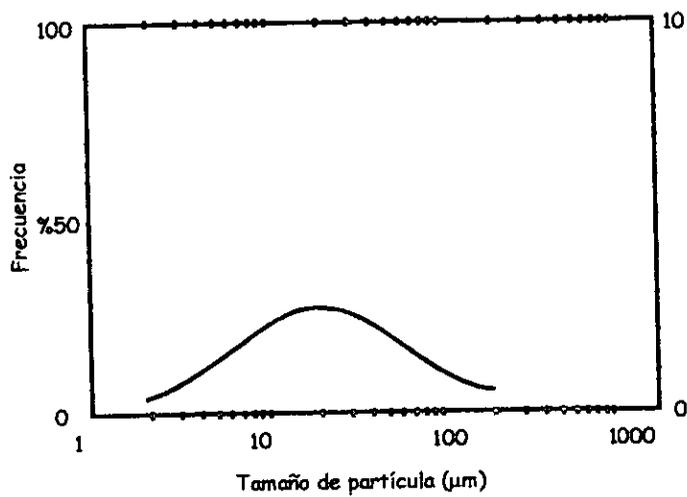
GA17-GM17-MD66 E-421
Media volumétrica 24.61 µm



GA17-GM17-MD66 E-431
Media volumétrica 31.44 µm

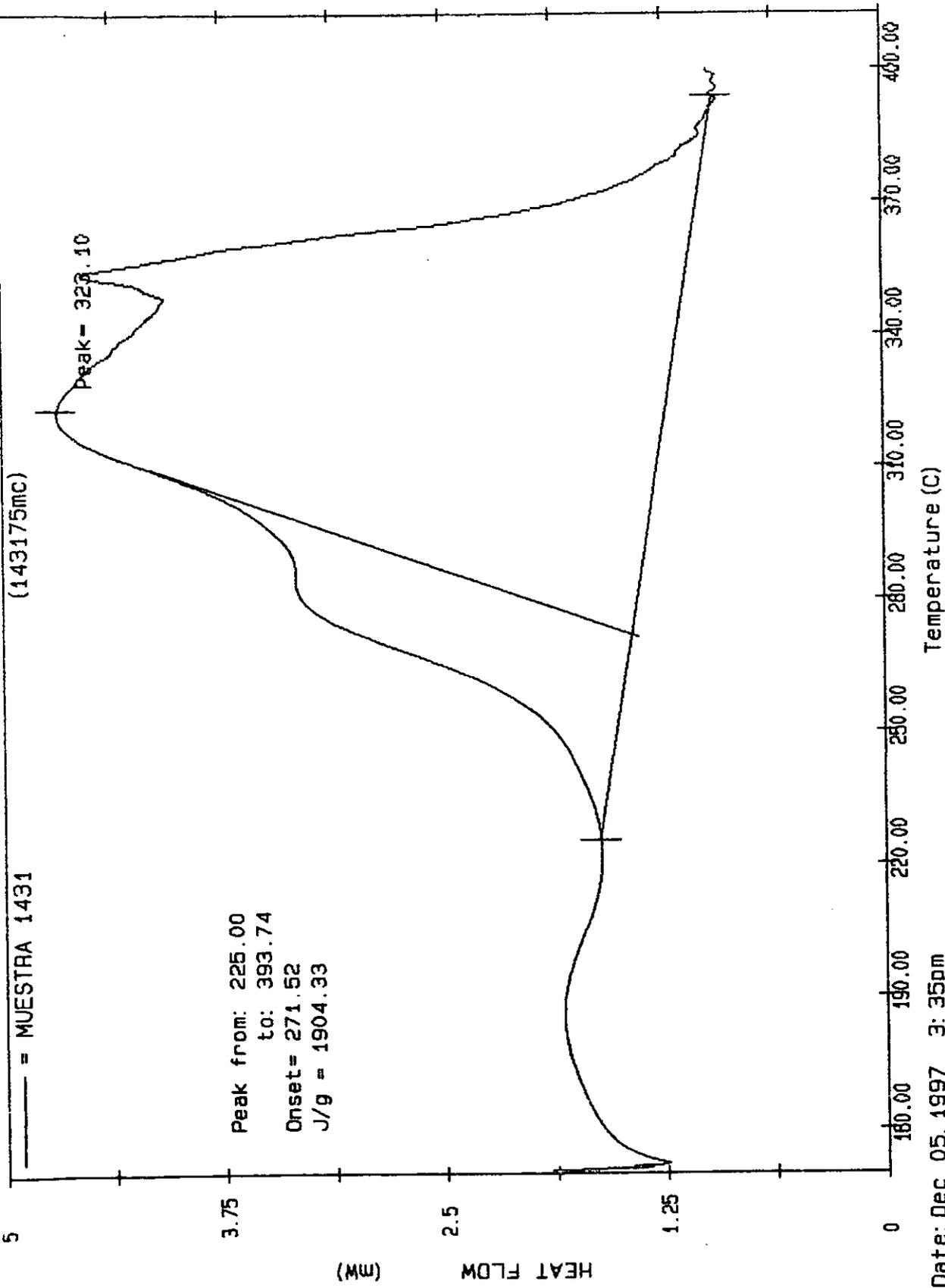


GA17-GM17-MD66 E-821
Media volumétrica 15.23 µm



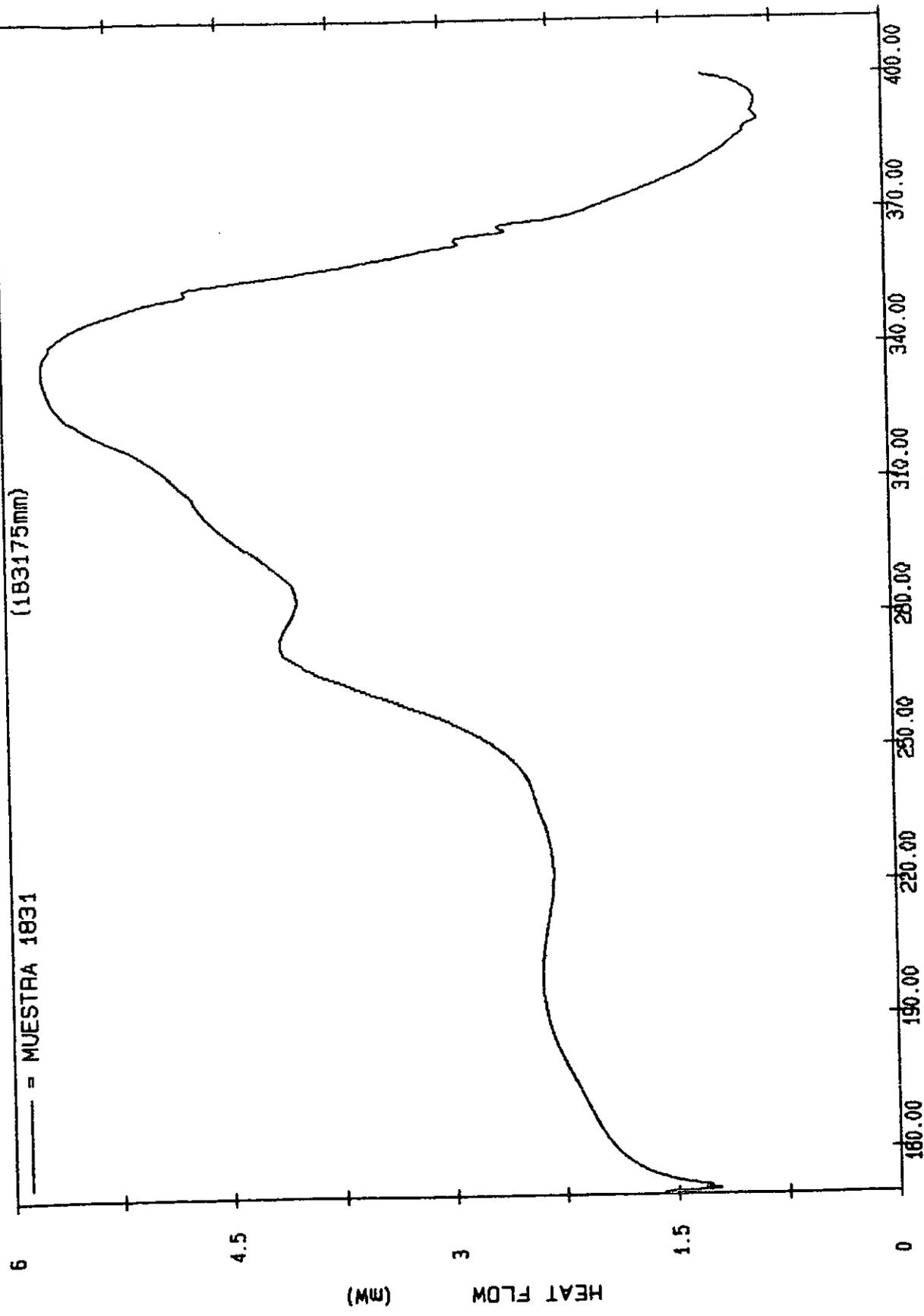
GA17-GM17-MD66 E831
Media volumétrica 30.04 µm

APÉNDICE 7
Termogramas obtenidos para los diferentes experimentos



Date: Dec 05, 1997 3: 35pm
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Wt: 1.185 mg Path: A:\
 File 1: 143175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7



(183175mm)

— = MUESTRA 1831

Date: Dec 03, 1997 6: 10pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.388 mg Path: a:\
File 1: 183175MM AVM

PERKIN-ELMER DSC7

(243175MC)

— = MUESTRA 2431

5

3.75

2.5

1.25

0

HEAT FLOW (mW)

Peak from: 234.37
to: 389.06
Onset = 295.27
J/g = 1398.02

Peak = 327.37

400.00

370.00

340.00

310.00

280.00

250.00

220.00

190.00

Temperature (C)

Date: Dec 04, 1997 5: 32pm

Scanning Rate: 7.5 C/min

Sample Wt: 0.909 mg Path: a:\

File 1: 243175MC AVM

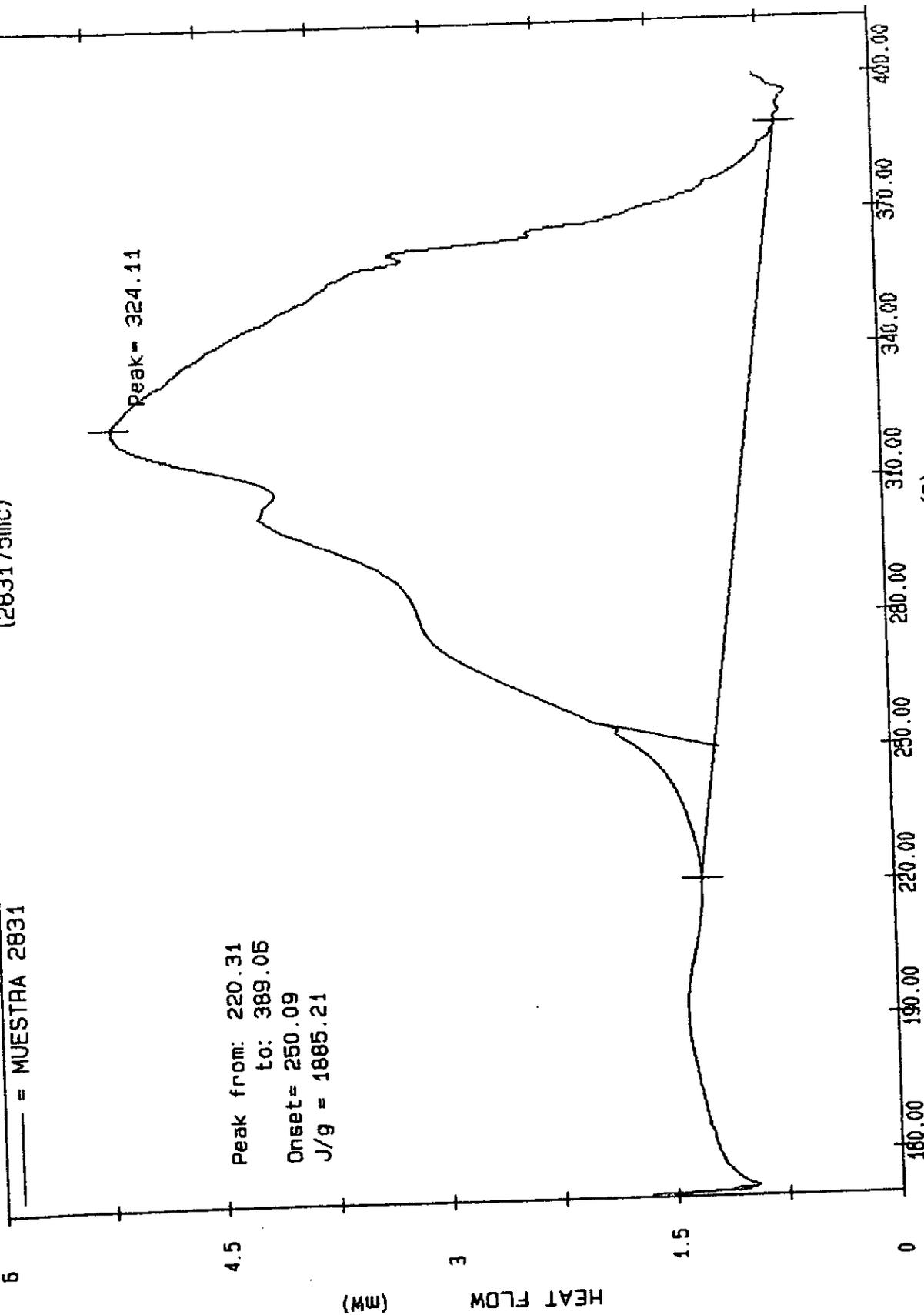
PERKIN-ELMER DSC7

— = MUESTRA 2831

(28317511C)

Peak from: 220.31
to: 389.05
Onset = 250.09
J/g = 1885.21

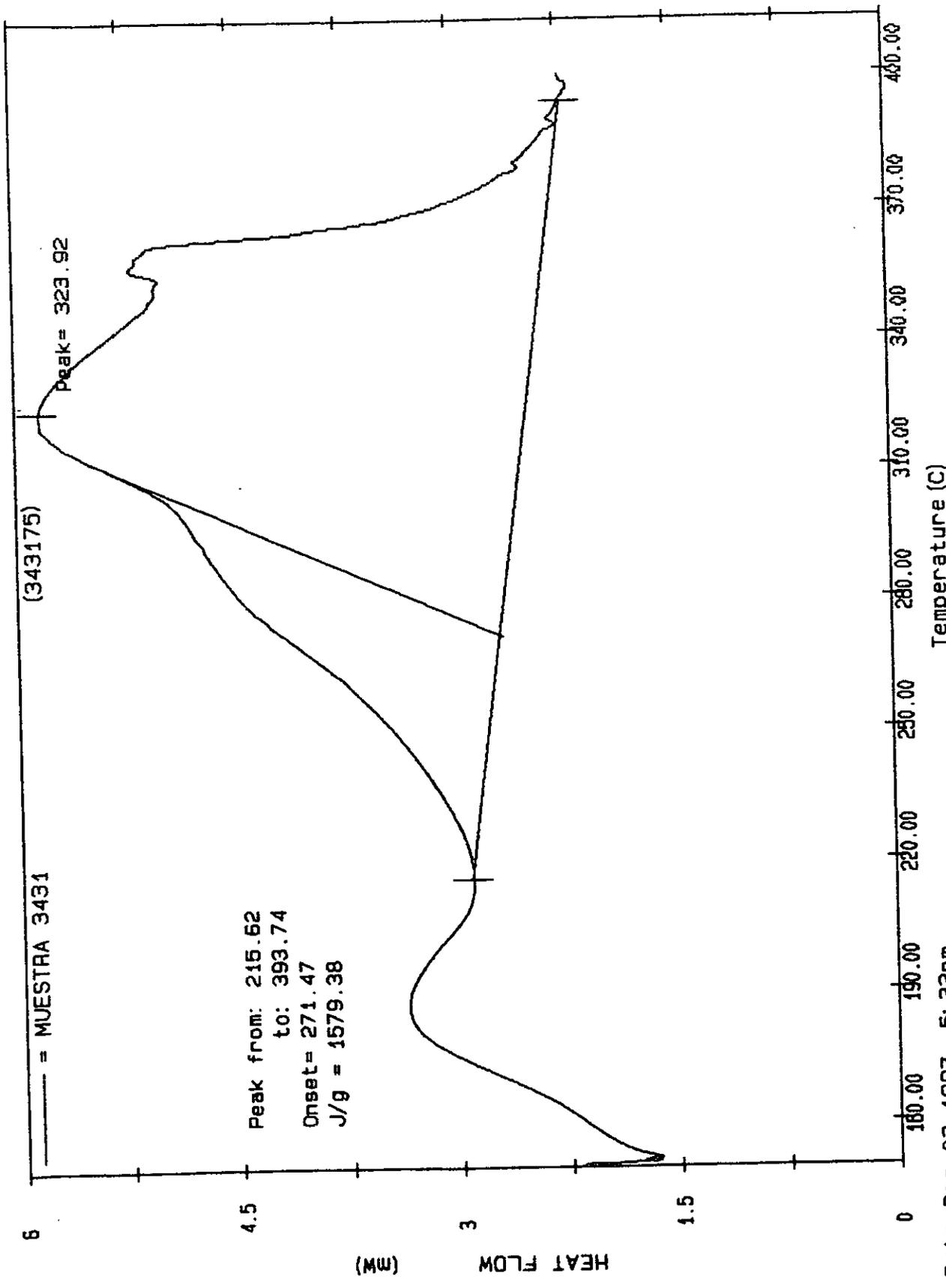
Peak = 324.11



Temperature (C)

Date: Dec 05, 1997 1:42pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.394 mg Path: A:\
File 1: 28317511C AVM

PERKIN-ELMER DSC7



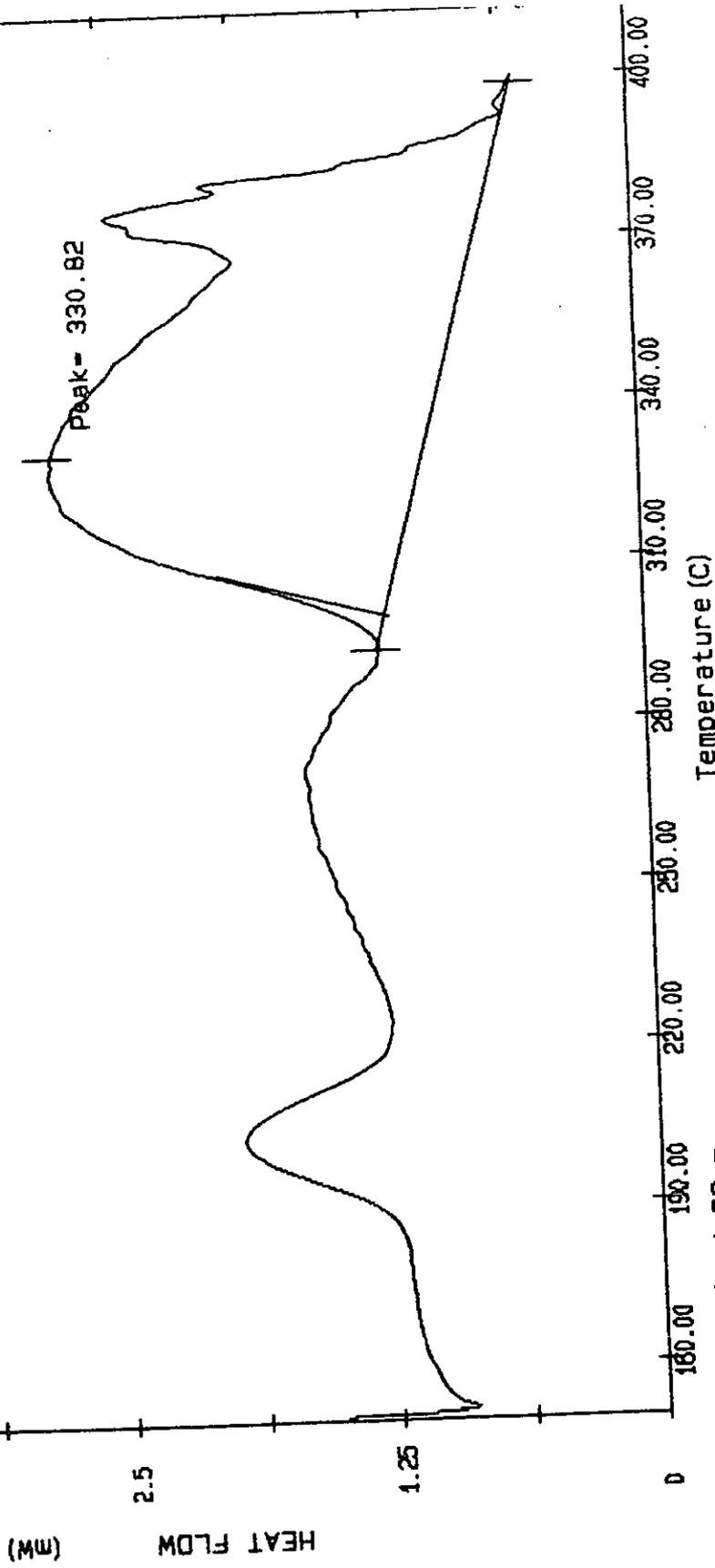
Temperature (C)

Date: Dec 03, 1997 5:33pm
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Wt: 1.434 mg Path: a:\
 File 1: 343175 AVM

PERKIN-ELMER DSC7

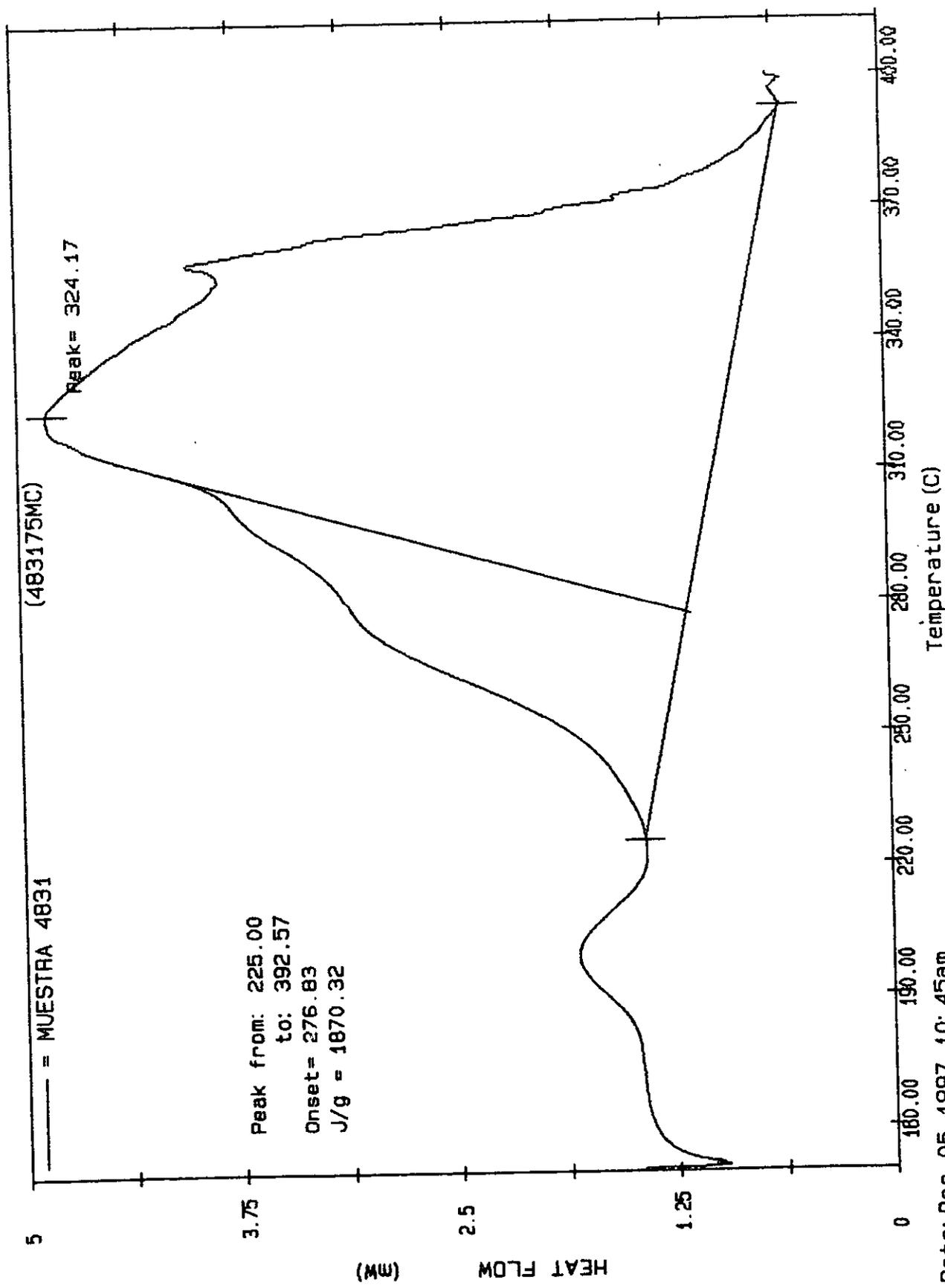
— = MUESTHA 3831

Peak from: 292.96
to: 398.43
Onset = 299.69
J/g = 691.49



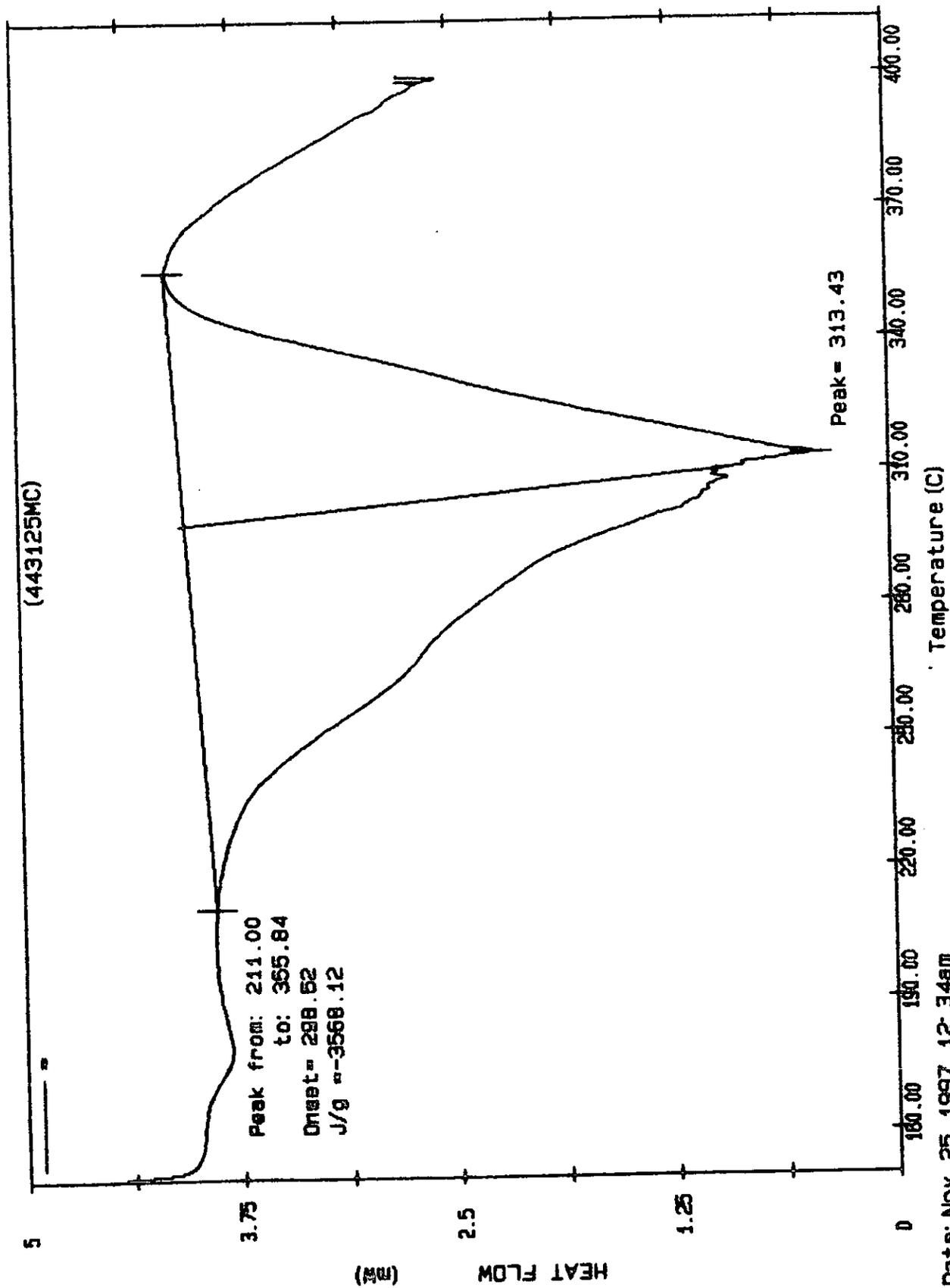
Date: Dec 03, 1997 4: 52pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.365 mg Path: a\
File 1: 383175MG AVM

PERKIN-ELMER DSC7



Date: Dec 05, 1997 10: 45am
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Wt: 1.382 mg Path: A: \
 C:\THERM\483175MC 11/11

DFDK TN-FI MFR 0987



Date: Nov 25, 1997 12:34am
 Scanning Rate: 2.5 C/min
 Sample Wt: 1.244 mg Path: e:\
 File 1: 443125MC

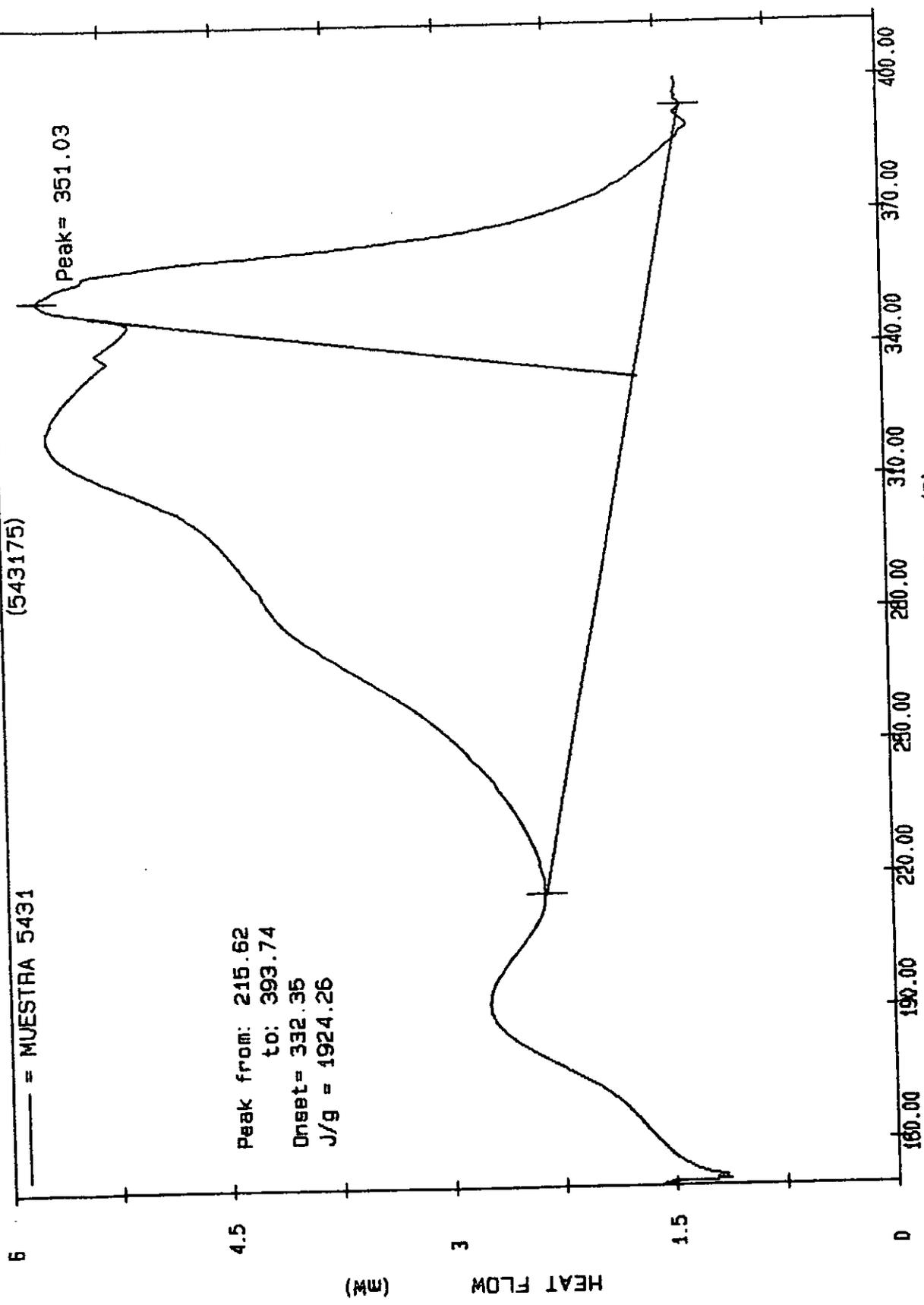
PERKIN-ELMER DSC7

(543175)

— = MUESTRA 5431

Peak from: 215.62
to: 393.74
Onset = 332.35
J/g = 1924.26

Peak = 351.03



Temperature (C)

Date: Dec 03, 1997 6: 48pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.430 mg Path: a:\
File 1: 543175 AVM

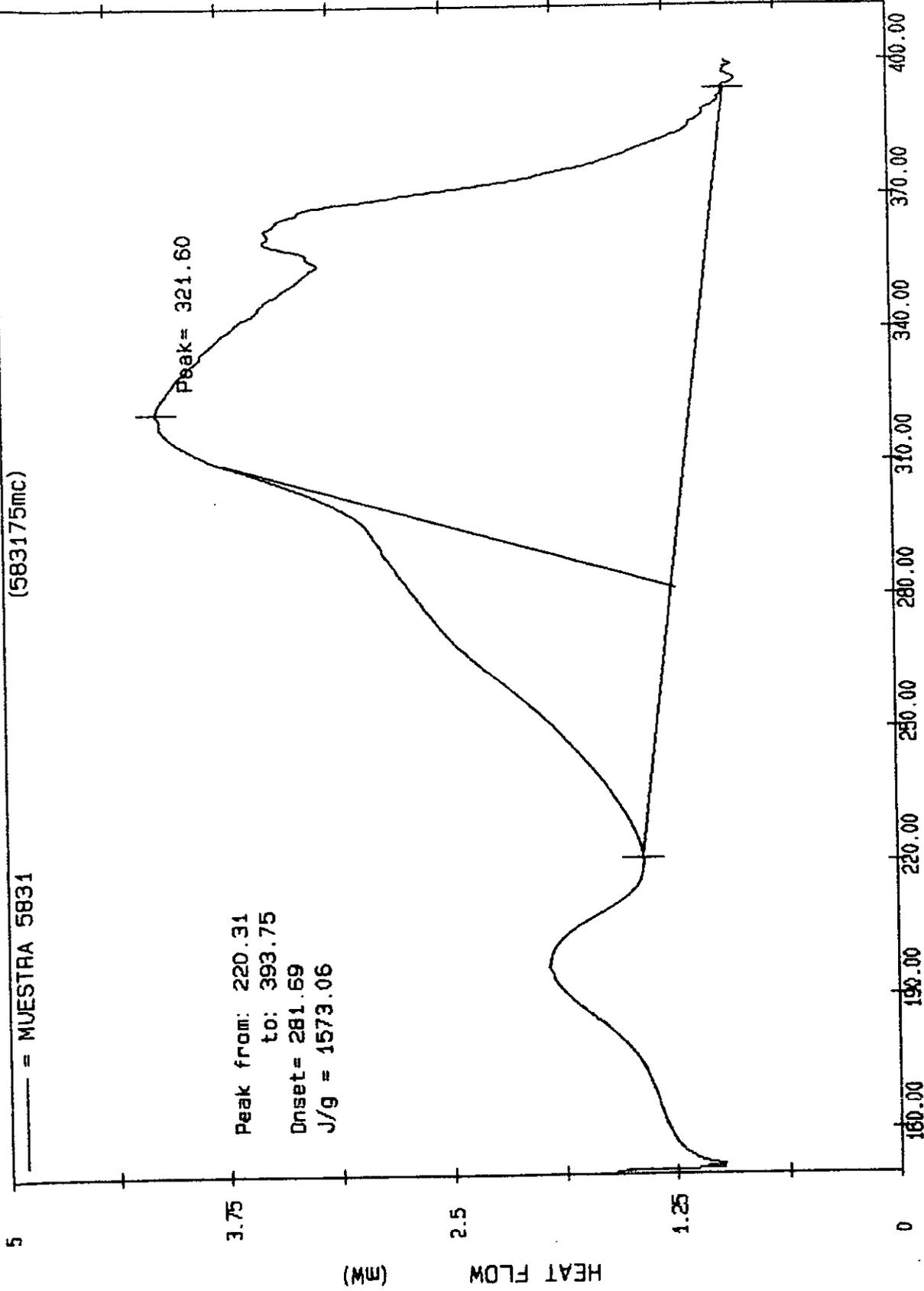
PERKIN-ELMER DSC7

(583175mc)

— = MUESTRA 5831

Peak from: 220.31
to: 393.75
Onset = 281.69
J/g = 1573.06

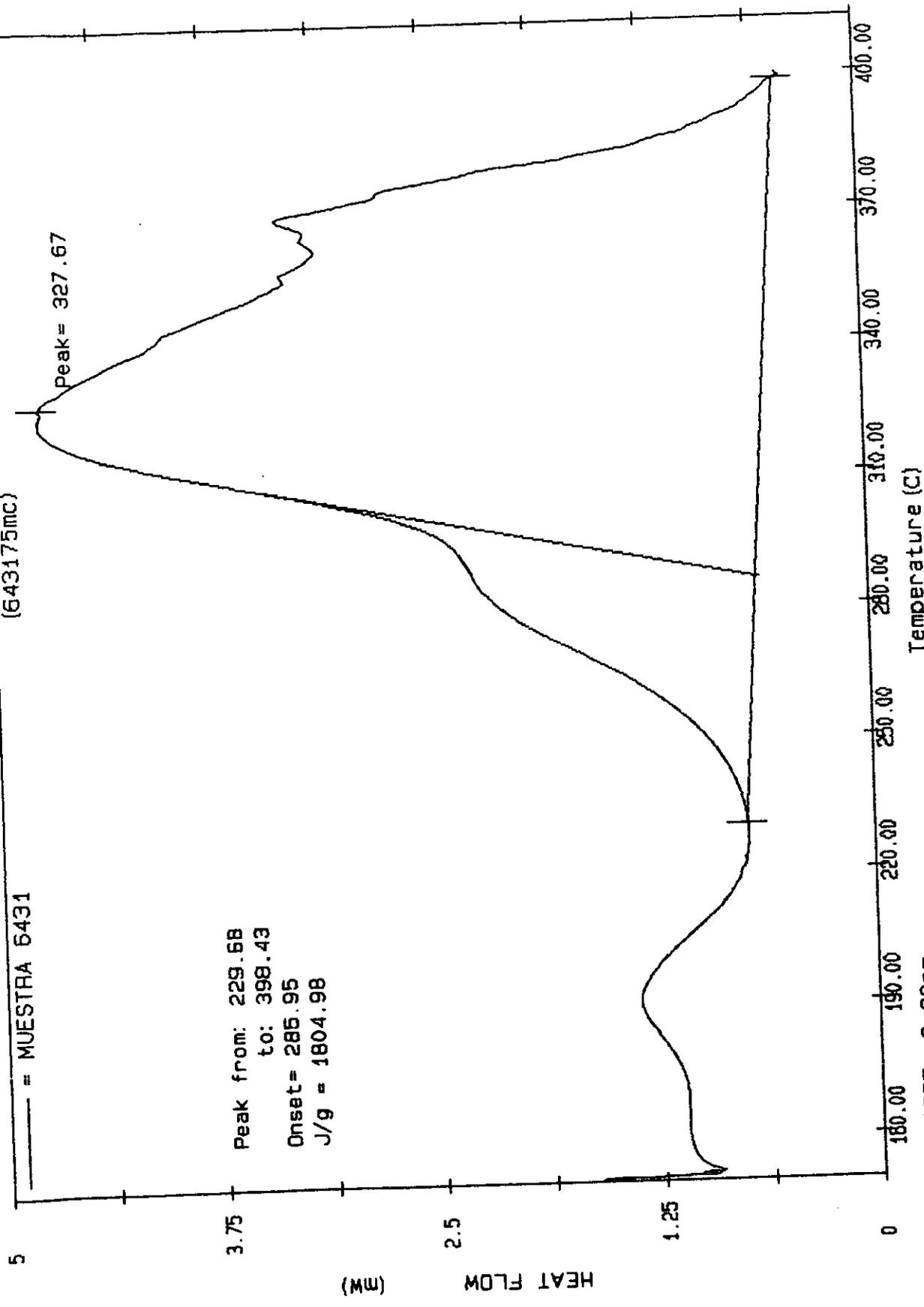
Peak = 321.60



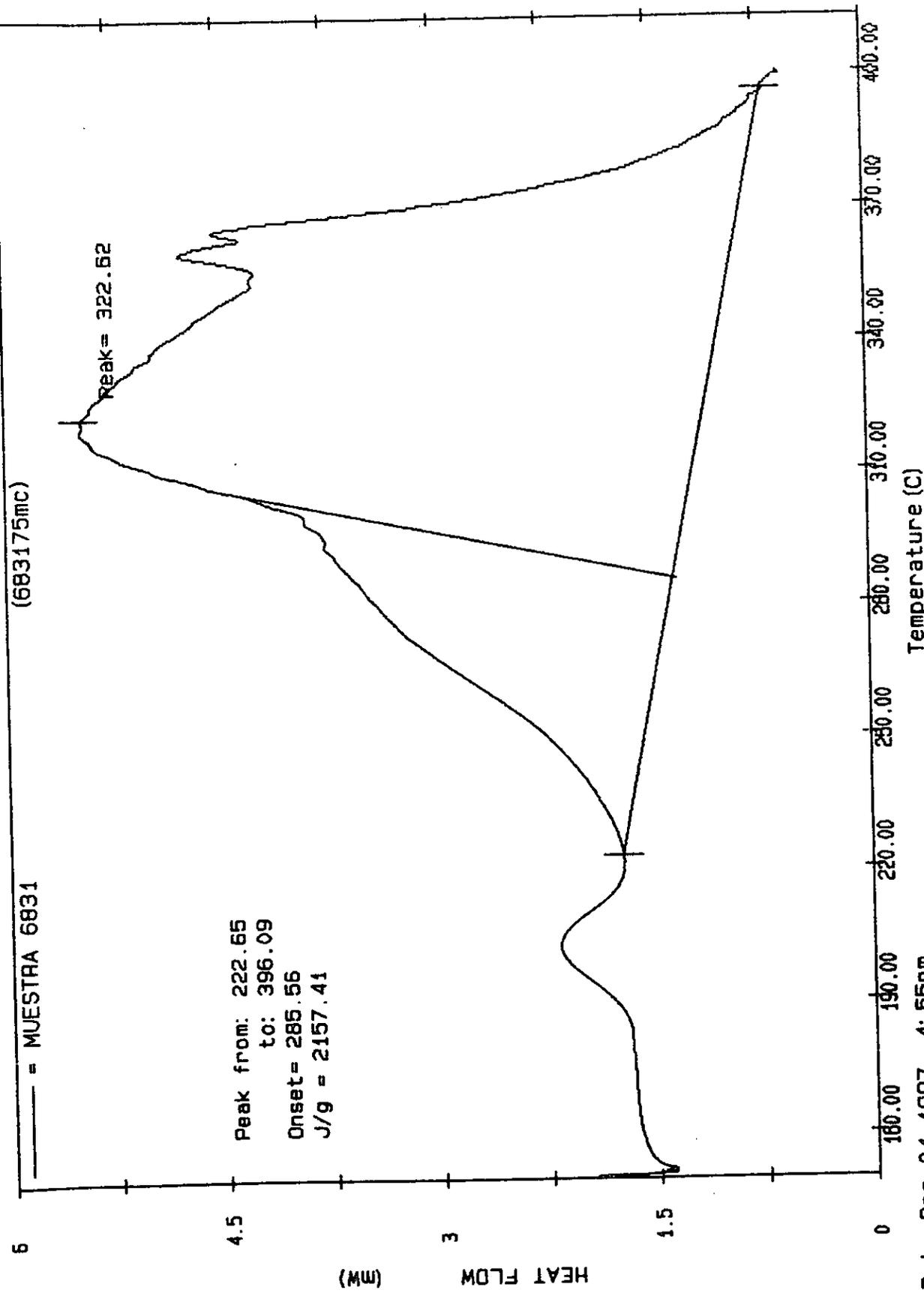
Temperature (C)

Date: Dec 05, 1997 4: 49pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.326 mg Path: A:\
File 1: 583175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7



Date: Dec 05, 1997 2: 20pm
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Wt: 1.416 mg Path: A:\
 File 1: 643175MC AVM
 PERKIN-ELMER DSC7
 Temperature (C)



Date: Dec 04, 1997 4: 55pm
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Wt: 1.381 mg Path: a:\
 File 1: 683175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7

(743175mc)

— = MUESTRA 7431

Peak from: 225.00
to: 393.75
Onset = 284.26
J/g = 1662.26

Peak = 324.07

HEAT FLOW (mW)

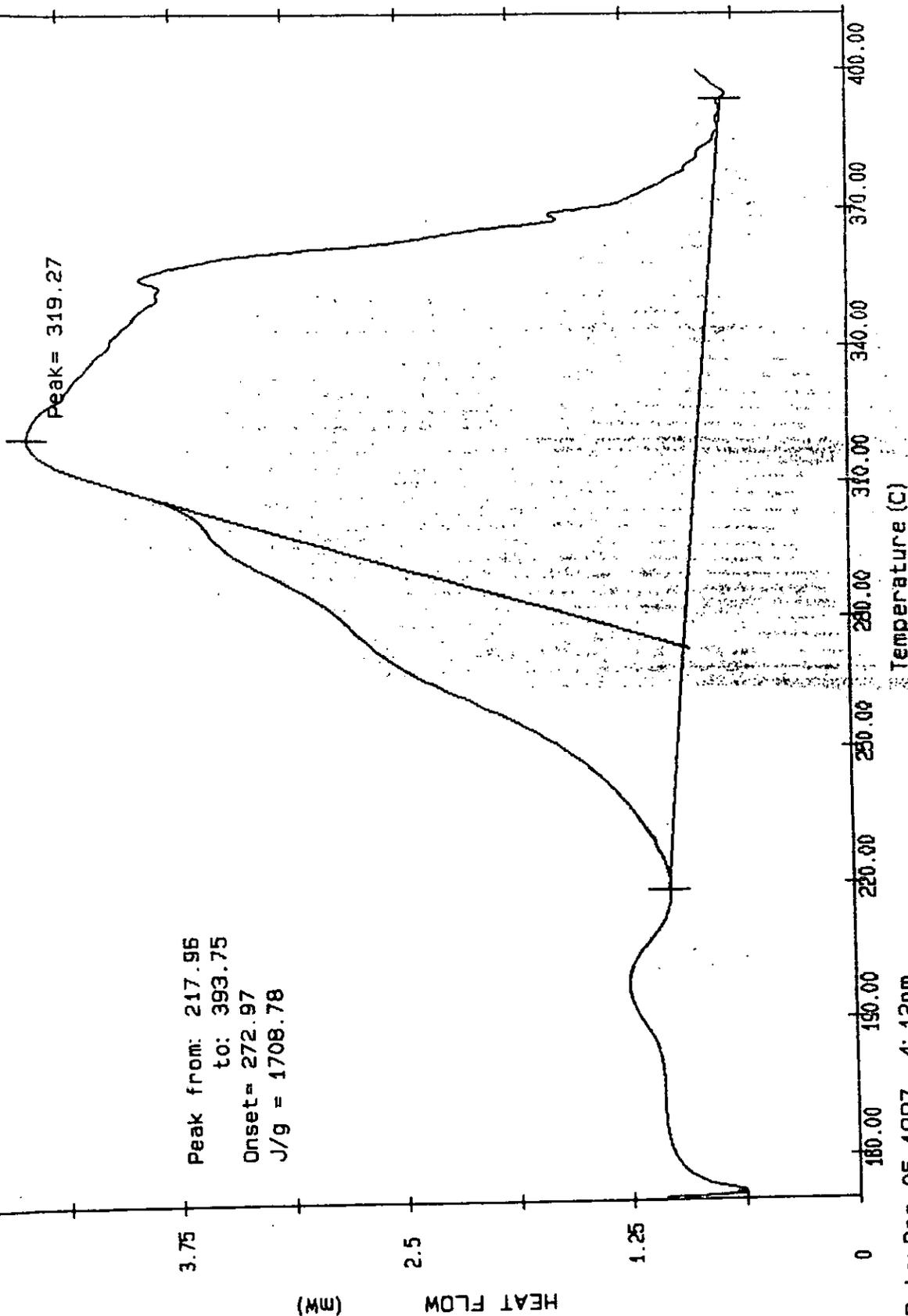
Temperature (C)

Date: Dec 05, 1997 08: 51am
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample wt: 1.299 mg Path: a:\
File 1: 743175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7

MUESTRA 7831

(783175MC)



Temperature (C)

PERKIN-ELMER DSC7

Date: Dec 05, 1997 4: 12pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.452 mg Path: A: \\\nFile 1: 783175MC AVM

(843175MC)

— = MUESTRA 8431

5

Peak from: 229.68
to: 398.43
Onset = 279.99
J/g = 1984.37

Peak = 323.32

HEAT FLOW (mW)

3.75

2.5

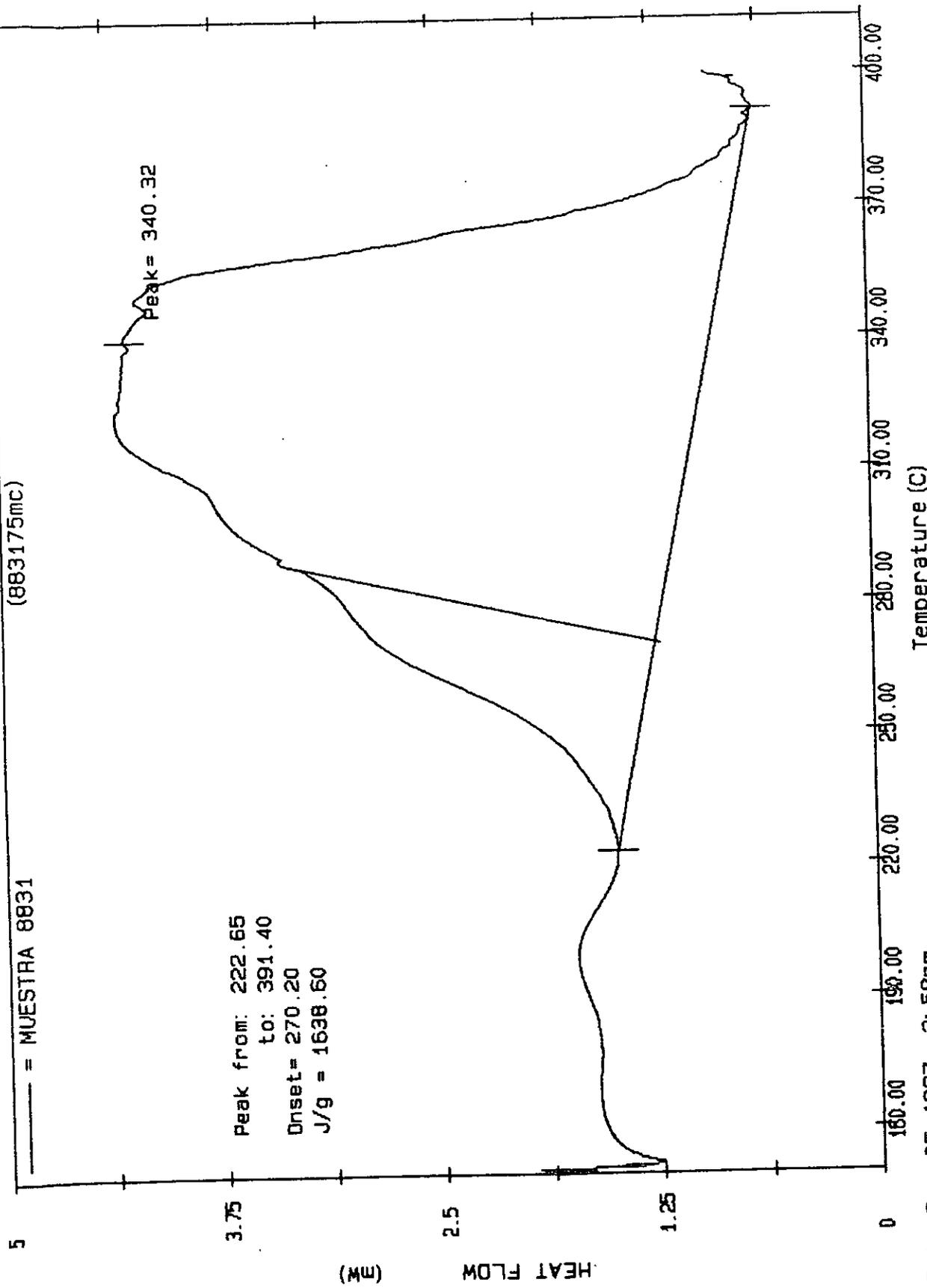
1.25

0

180.00 190.00 220.00 250.00 280.00 310.00 340.00 370.00 400.00
Temperature (C)

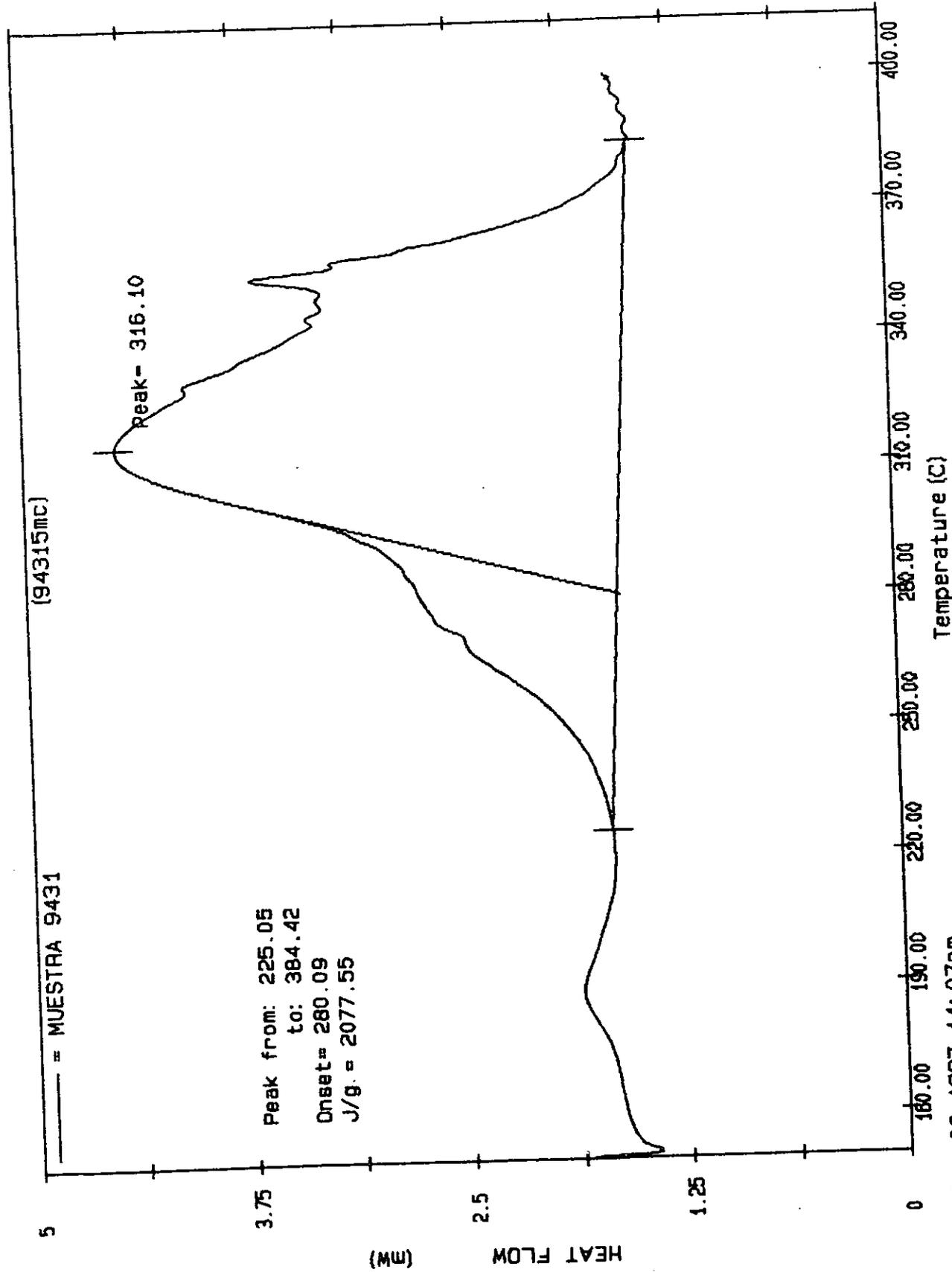
Date: Dec 05, 1997 12: 23am
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.041 mg Path: A:\
File 1: 843175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7



Date: Dec 05, 1997 2: 58pm
 Scanning Rate: 7.5 C/min
 Sample Mt: 1.441 mg Path: A: \\\n
 File 1: 883175MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7



Date: Dec 02, 1997 11:07am
Scanning Rate: 5.0 C/min
Sample Wt: 1.153 mg Path: a:\
File 1: 94315MC AVM

PERKIN-ELMER DSC7

(983175mc)

— = MUESTRA 9831

6

Peak from: 220.31
to: 393.75
Onset = 284.21
J/g = 1928.55

Peak = 323.40

HEAT FLOW (mW)

400.00
370.00
340.00
310.00
280.00
250.00
220.00
190.00
160.00
0

Temperature (C)

Date: Dec 05, 1997 09: 30am
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.482 mg Path: a:\
File 1:983175MC A1M

PERKIN-ELMER DSC7

(1043175m)

— = MUESTRA 10431

5

3.75

2.5

1.25

0

HEAT FLOW (mW)

Peak = 325.12

Peak from: 234.37
to: 398.43
Onset = 291.62
J/g = 1265.32

180.00 190.00 200.00 210.00 220.00 230.00 240.00 250.00 260.00 270.00 280.00 290.00 300.00 310.00 320.00 330.00 340.00 350.00 360.00 370.00 380.00 390.00 400.00

Temperature (C)

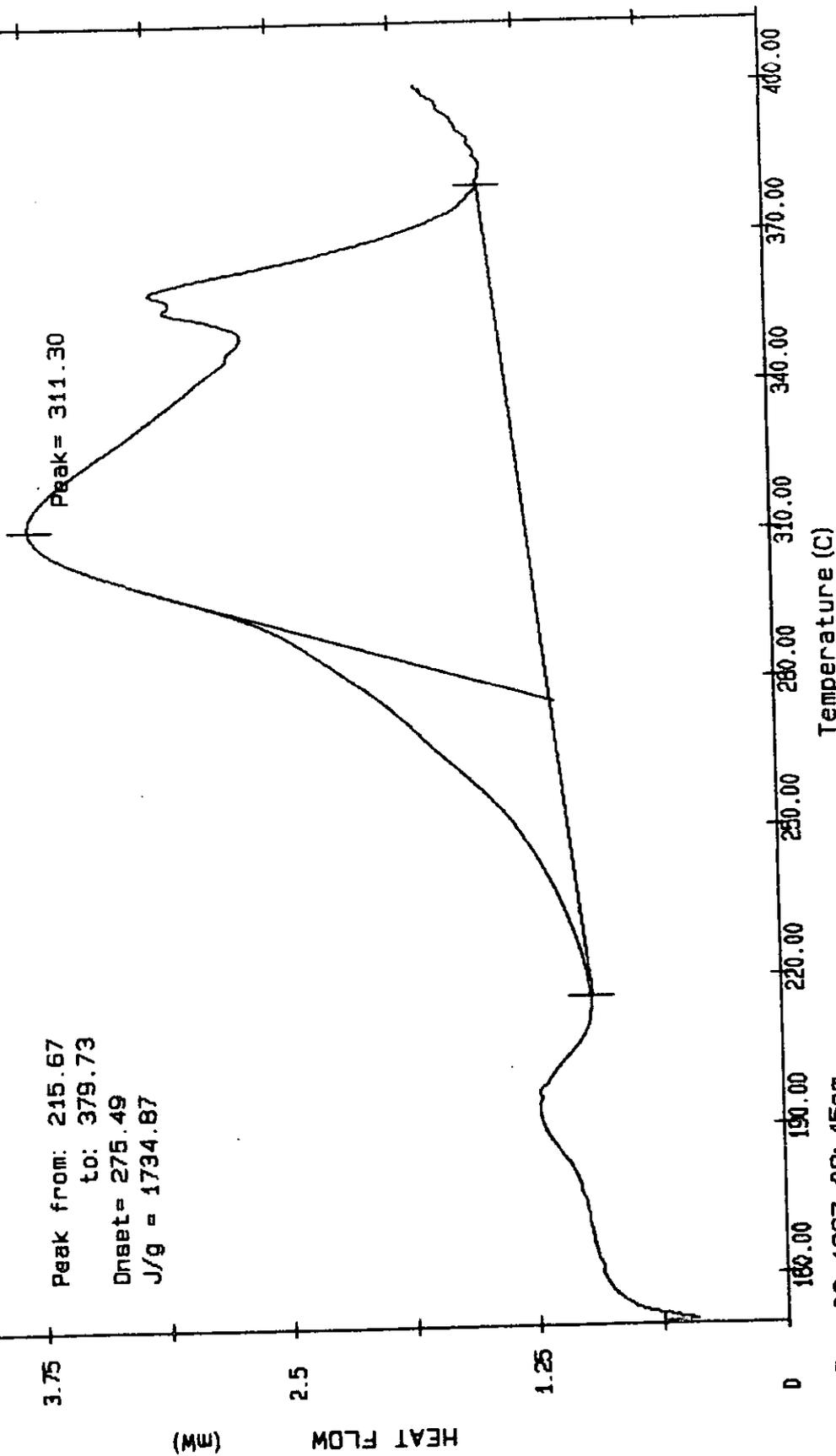
Date: Dec 05, 1997 1: 02pm
Scanning Rate: 7.5 C/min
Sample Wt: 1.492 mg Path: A:\
File 1: 1043175M AVM

PERKIN-ELMER DSC7

(108315ma)

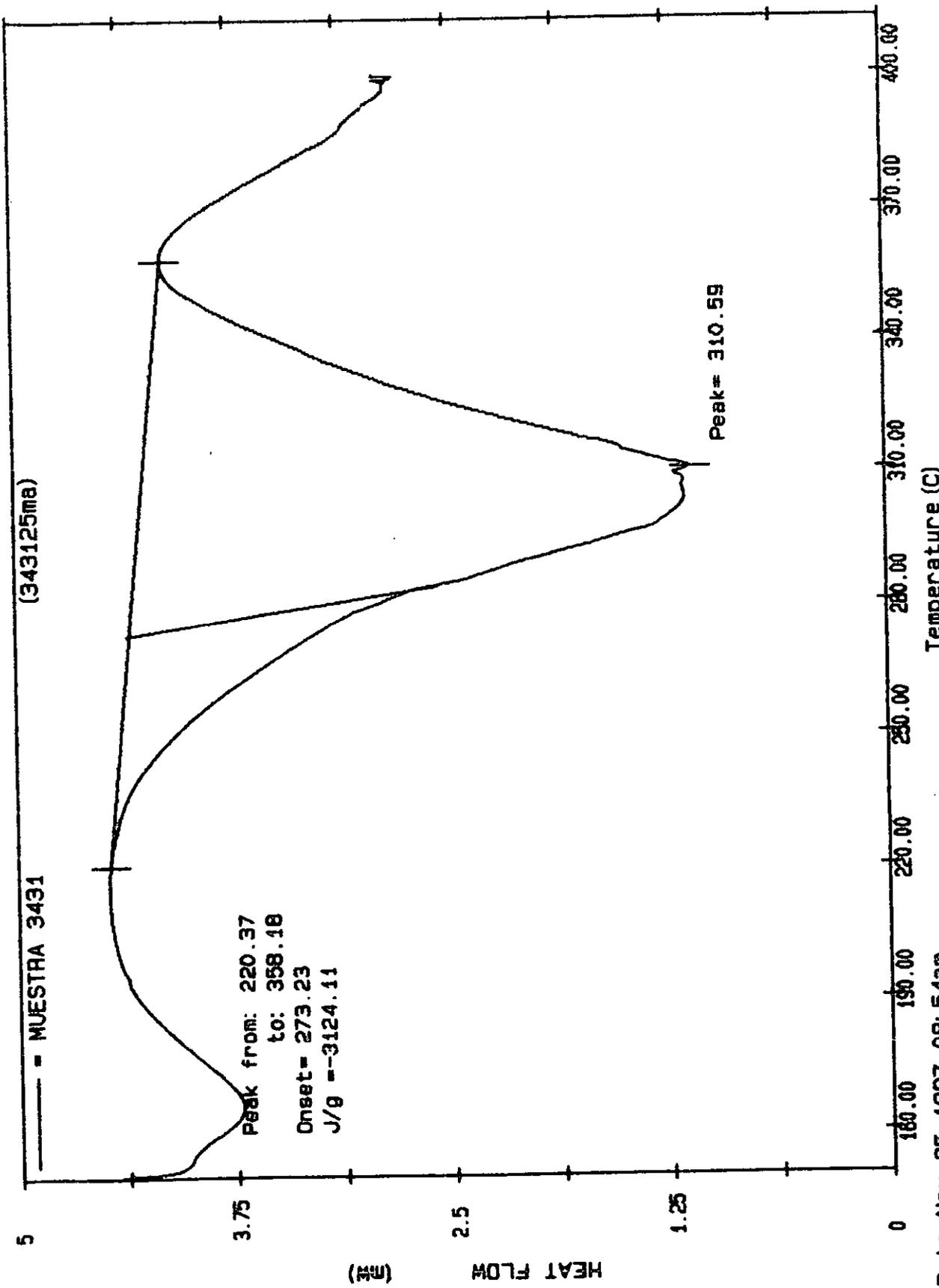
5 — = MUESTRA 10831

5



Date: Dec 02, 1997 08: 45am
Scanning Rate: 5.0 C/min
Sample Wt: 1.224 mg Path: a:\
File 1: 108315MA AVN

PERKIN-ELMER DSC7



Date: Nov 25, 1997 08: 54am
 Scanning Rate: 2.5 C/min
 Sample Wt: 1.244 mg Path: a:\
 File 1: 343125MA A1M

PERKIN-ELMER DSC7

(383125mg)

— = MUESTRA 3831

Peak from: 234.42
to: 363.25
Onset = 297.70
J/g = -2361.65

Peak = 318.49

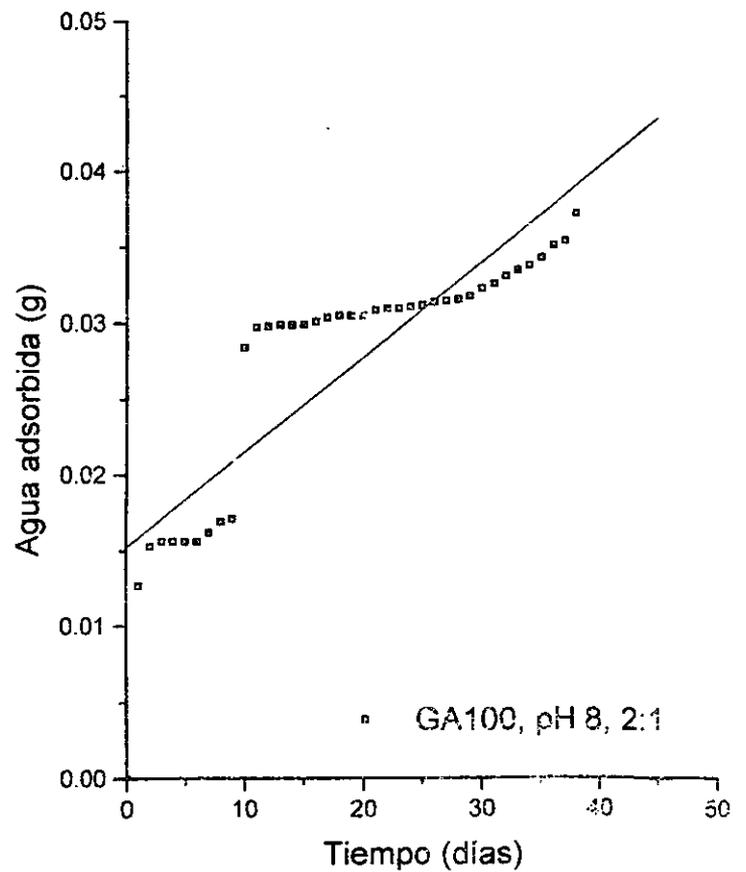
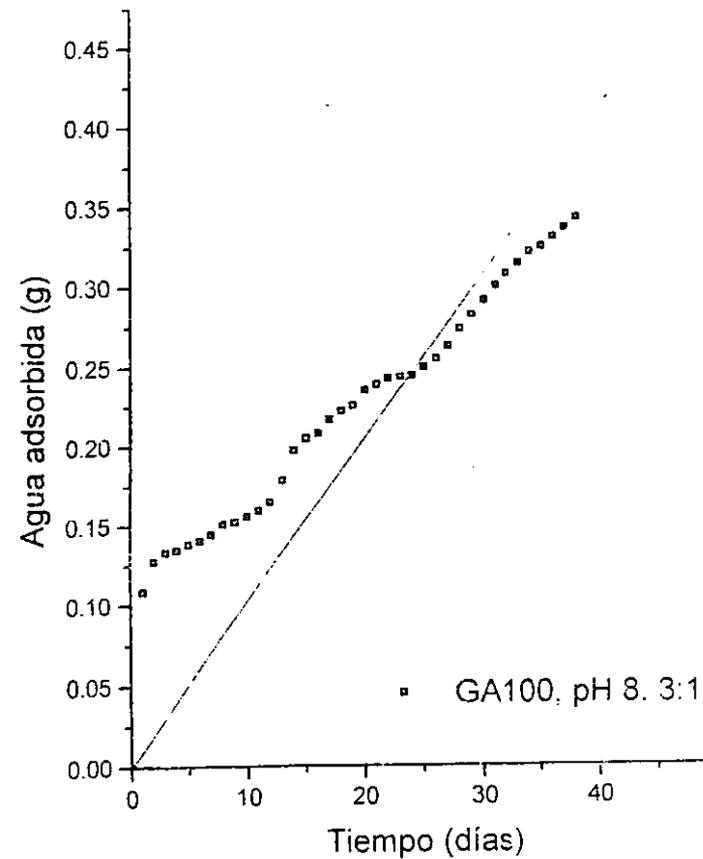
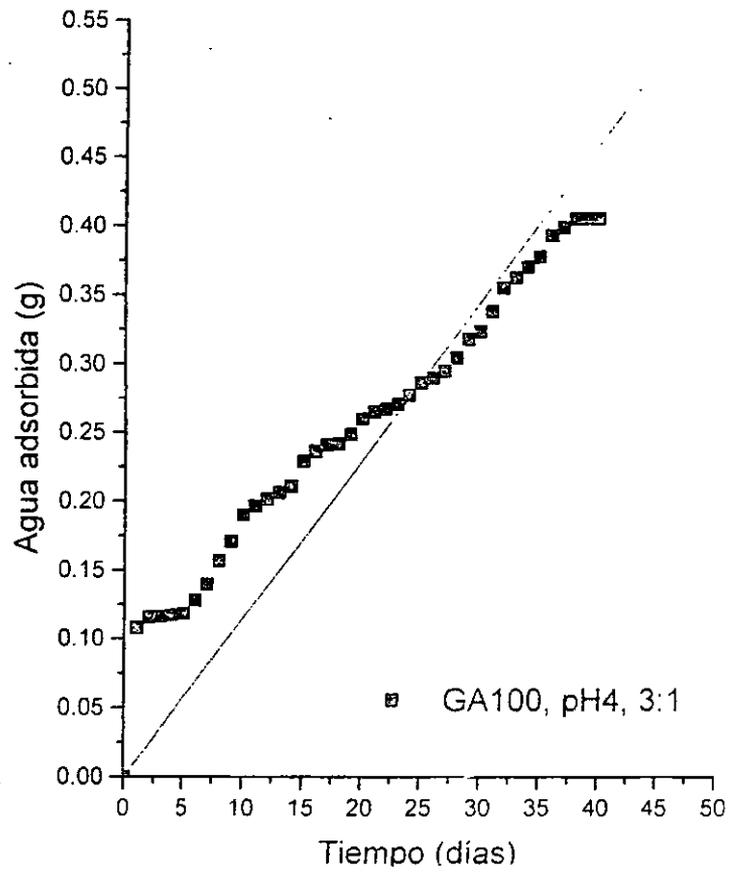
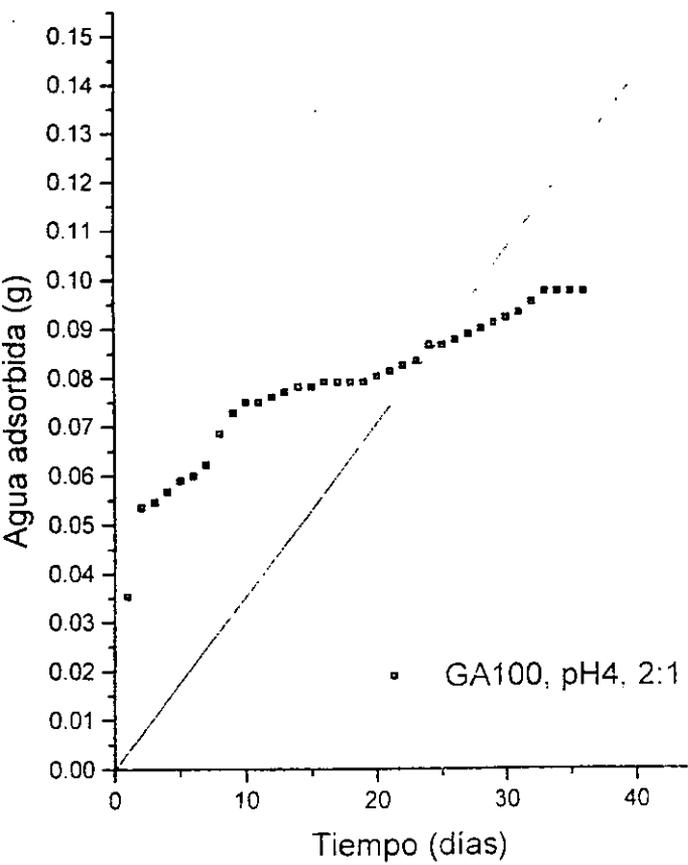
HEAT FLOW (mW)

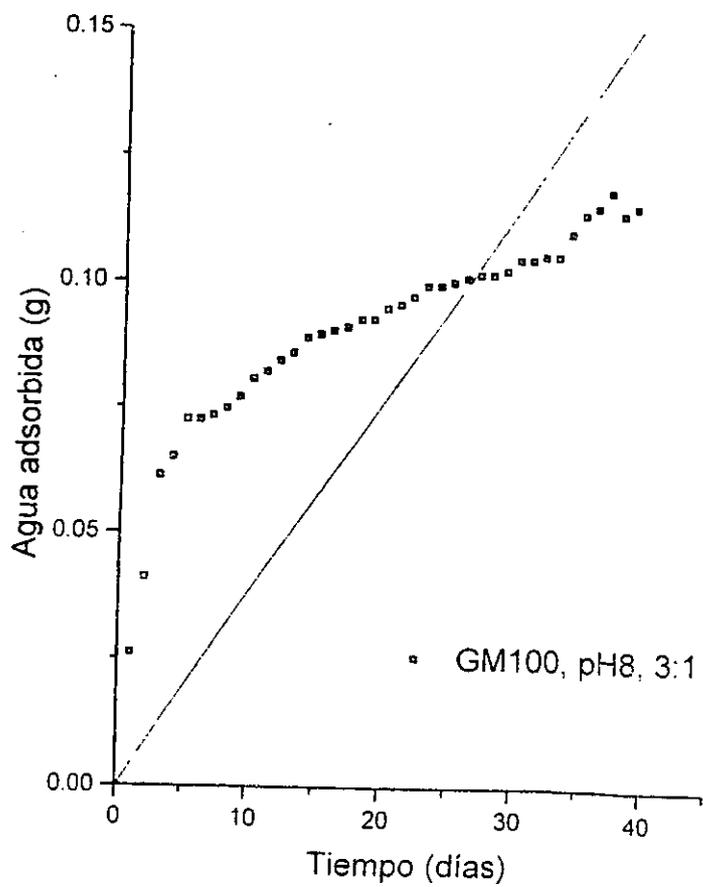
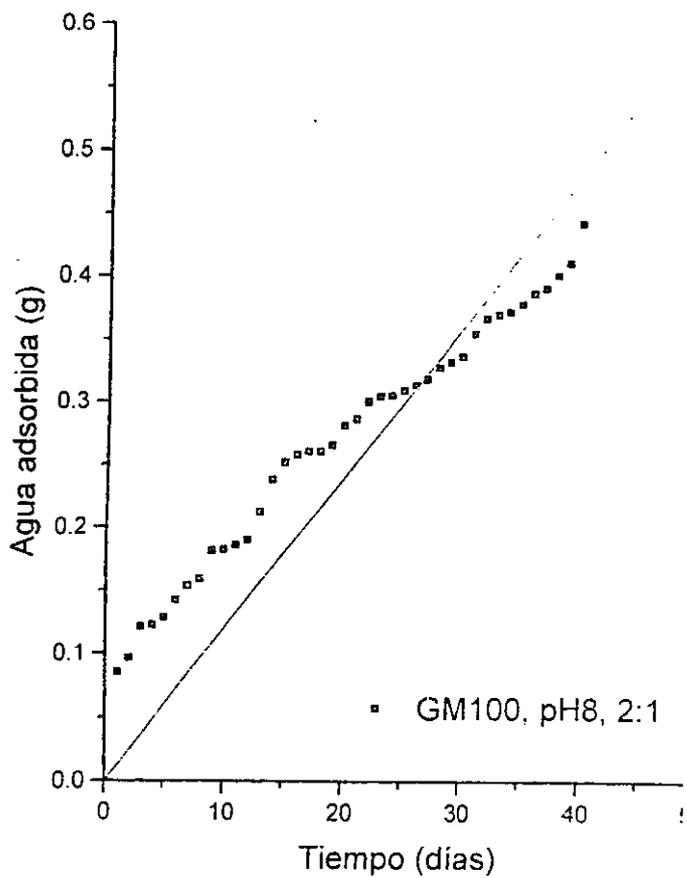
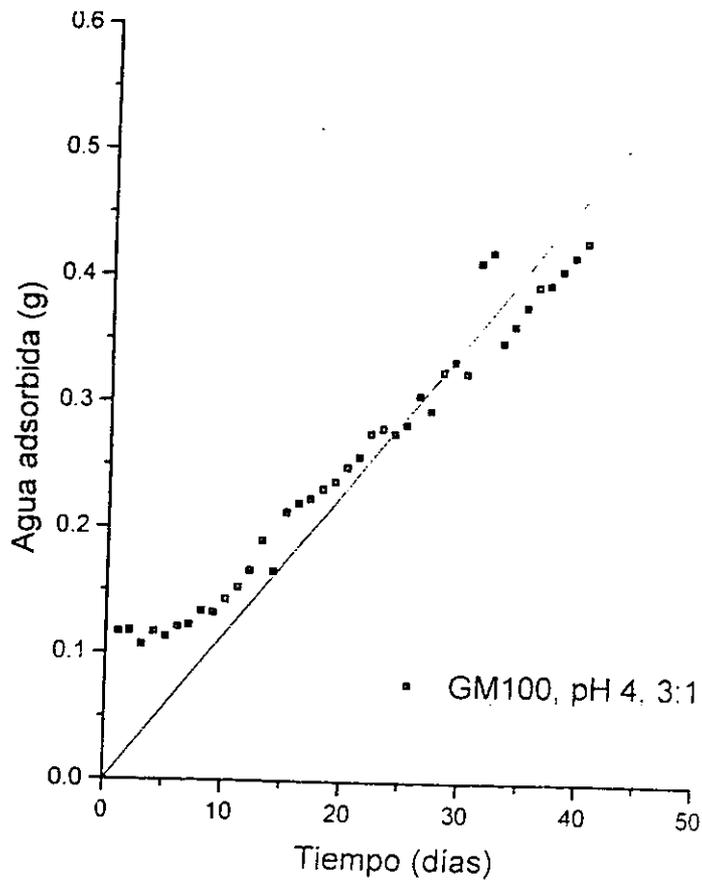
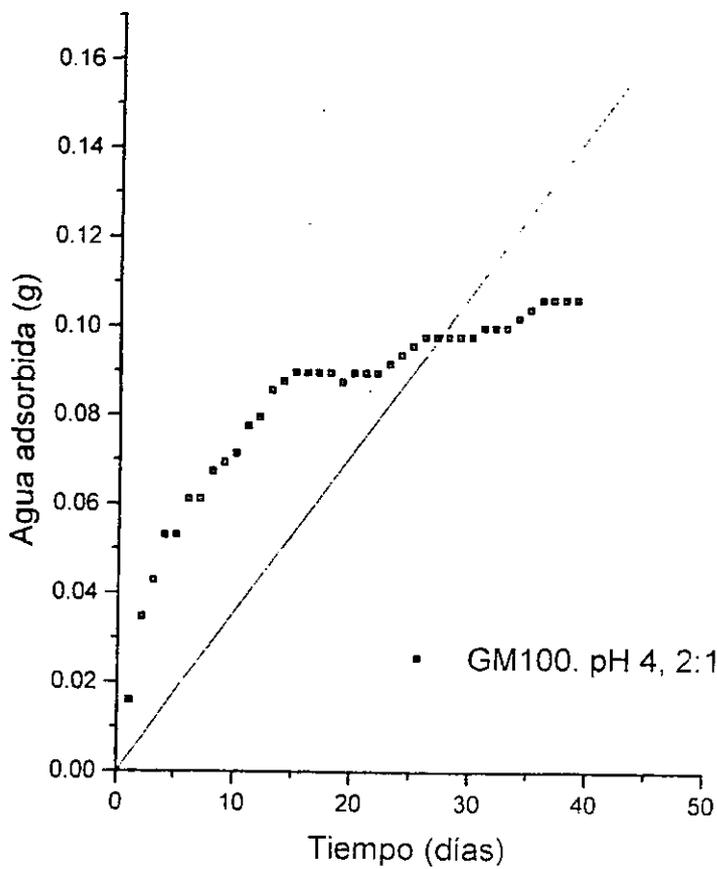
Temperature (C)

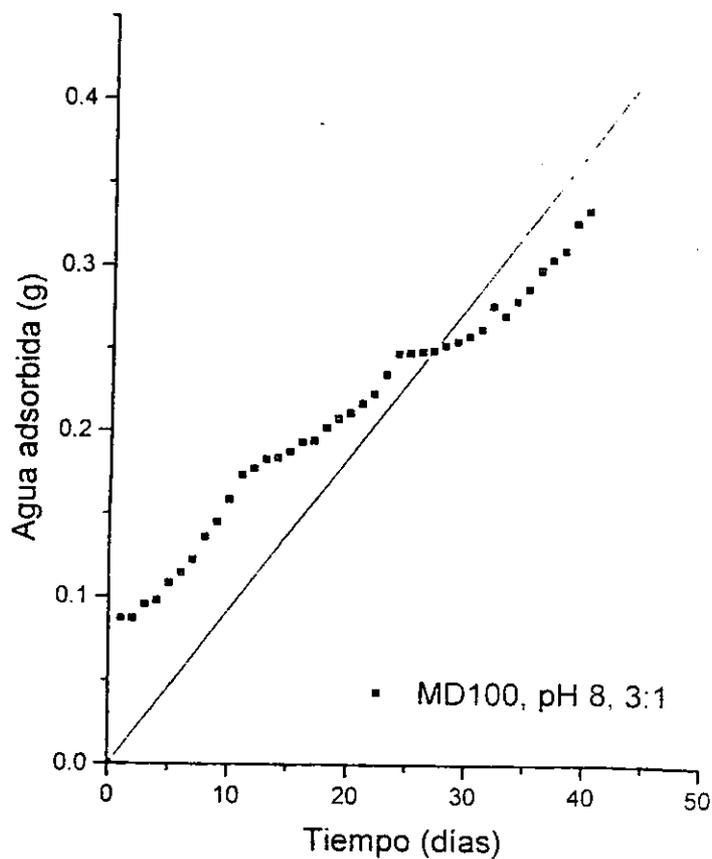
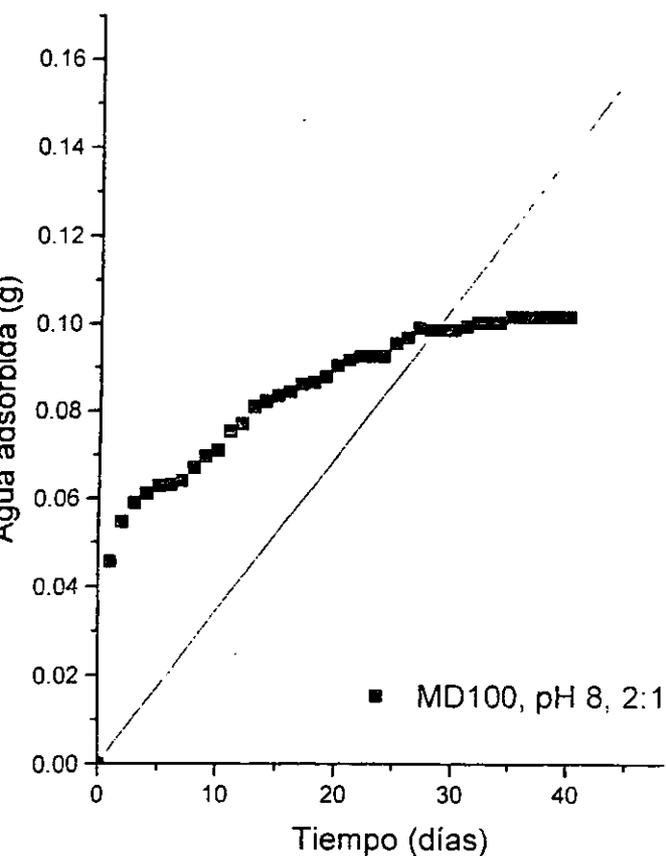
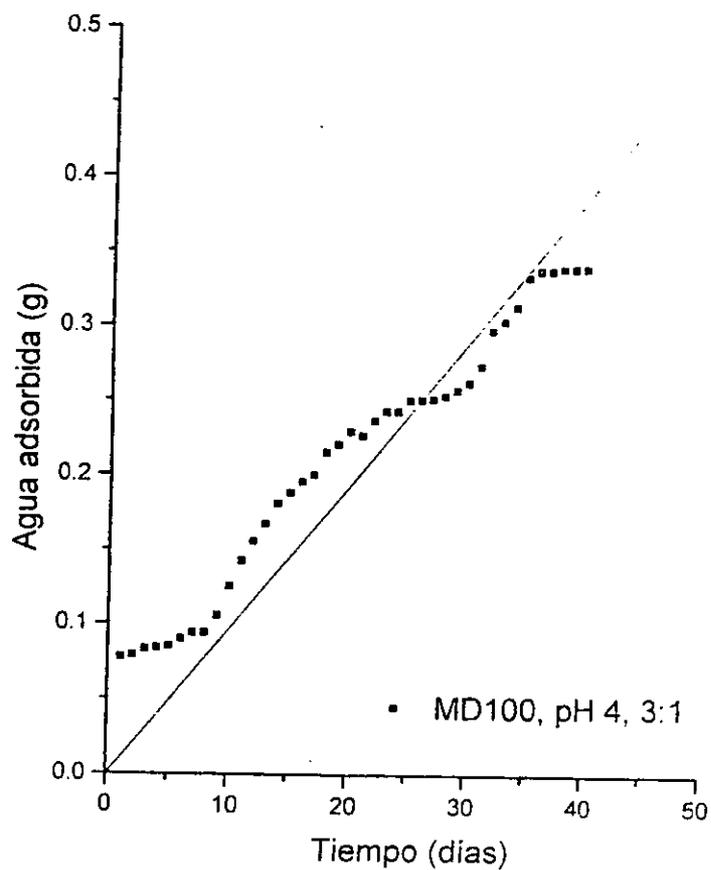
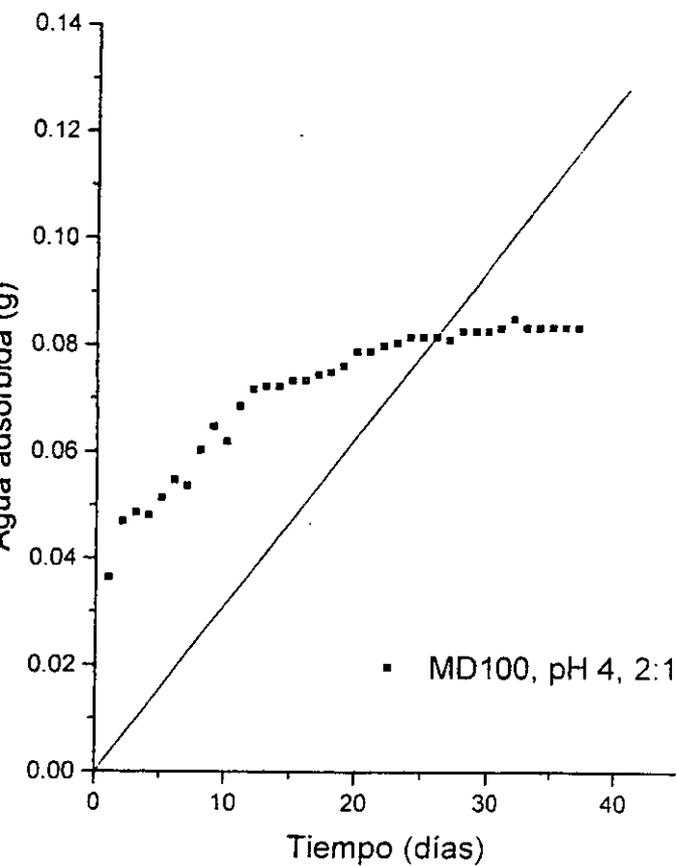
Date: Nov 24, 1997 6: 45pm
Scanning Rate: 2.5 C/min
Sample Wt: 1.363 mg Path: a:\
File 1: 383125MA AVW

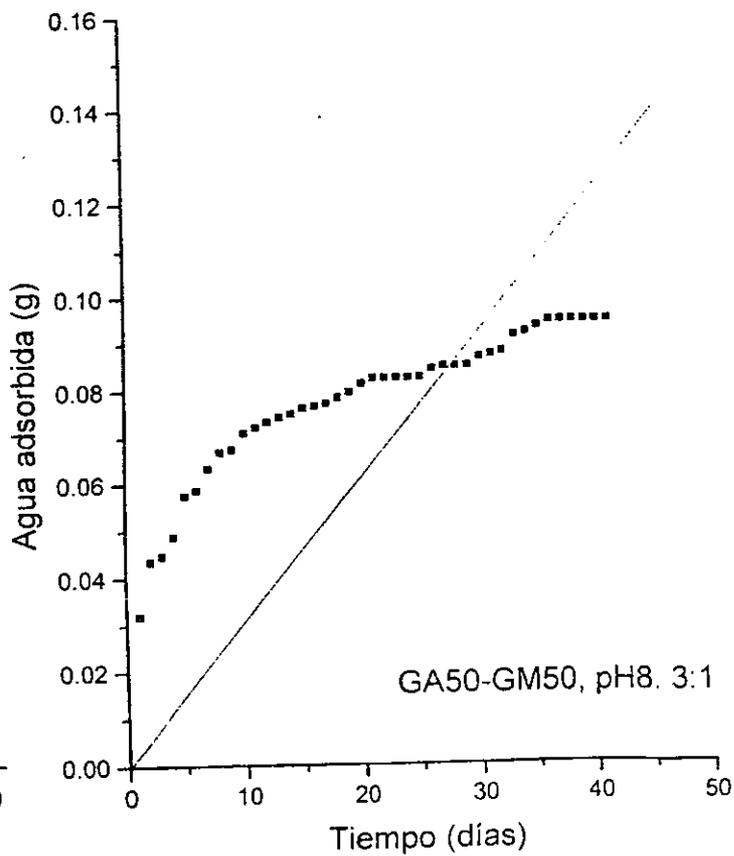
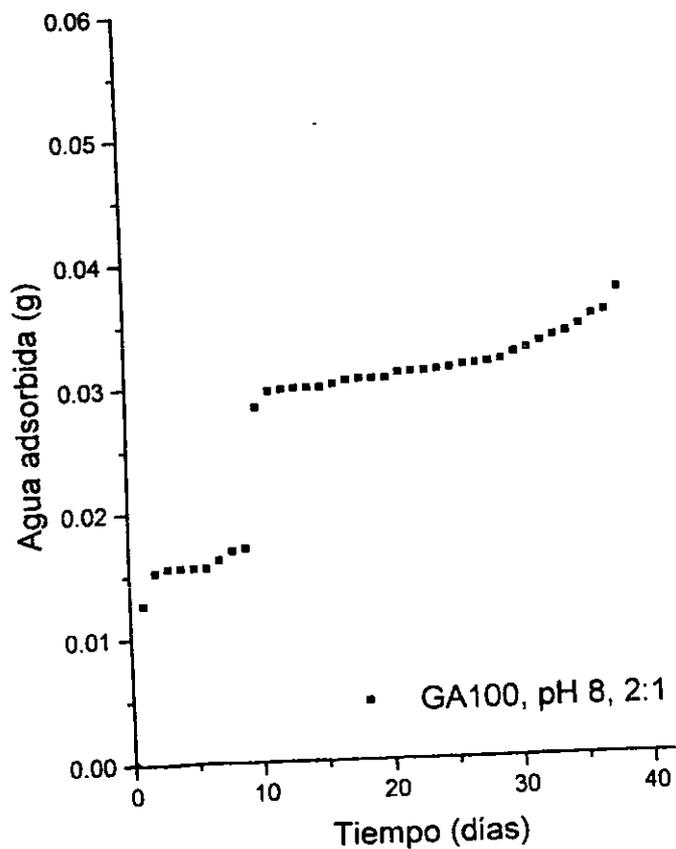
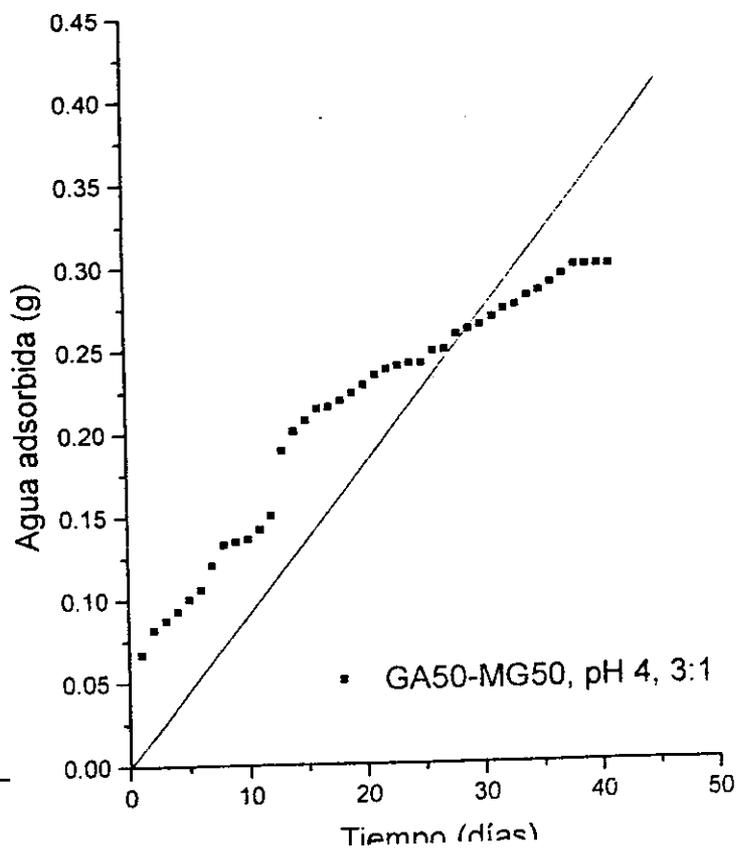
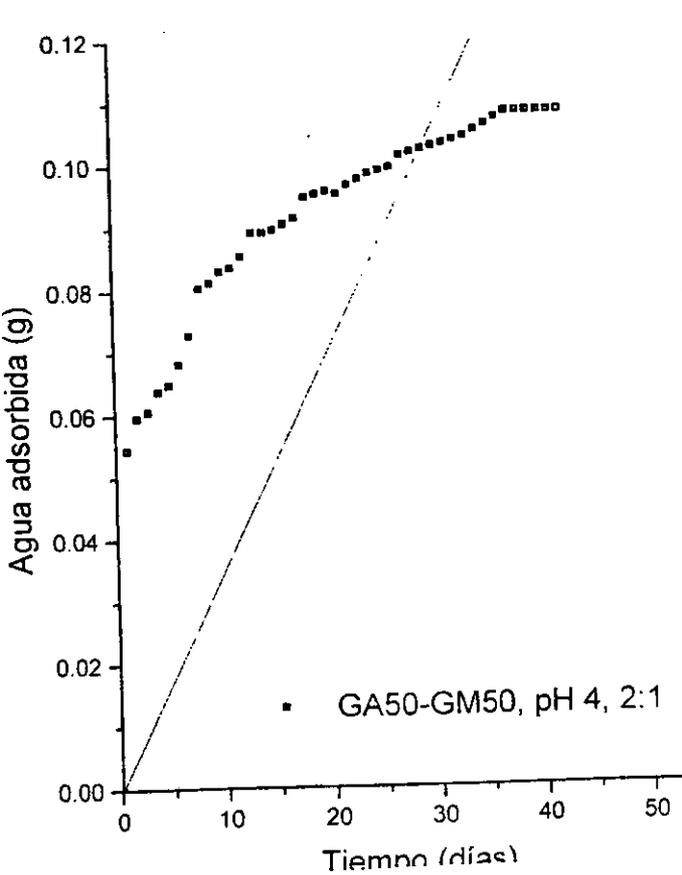
PERKIN-ELMER DSC7

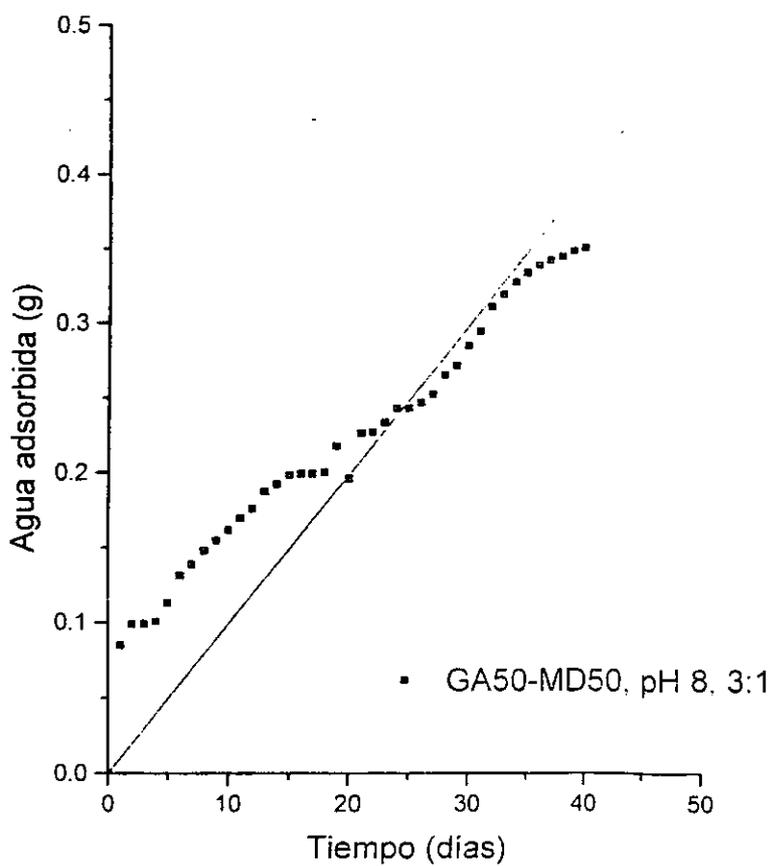
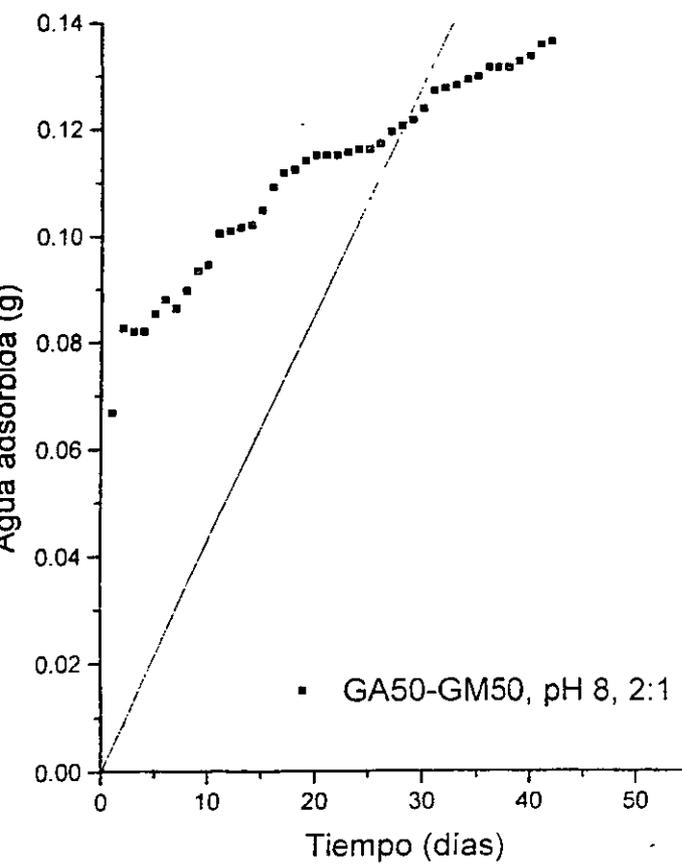
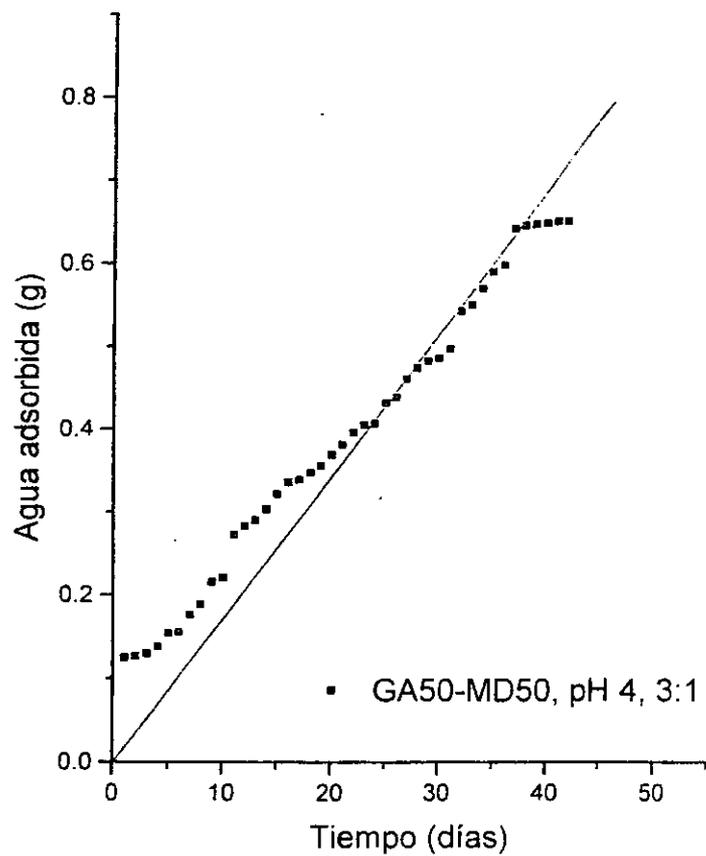
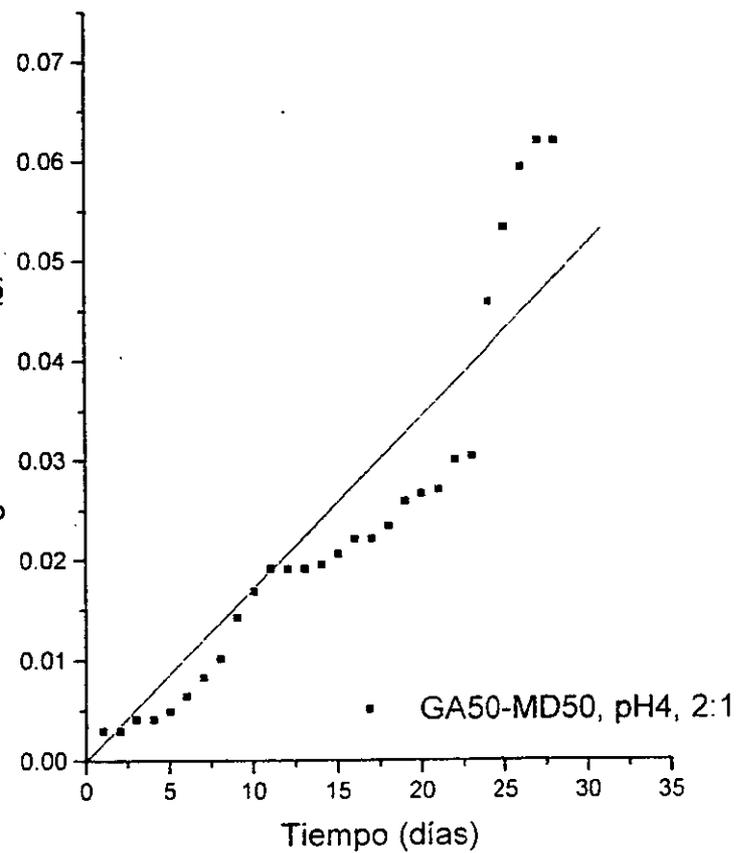
APÉNDICE 8
Gráficas de adsorción de agua

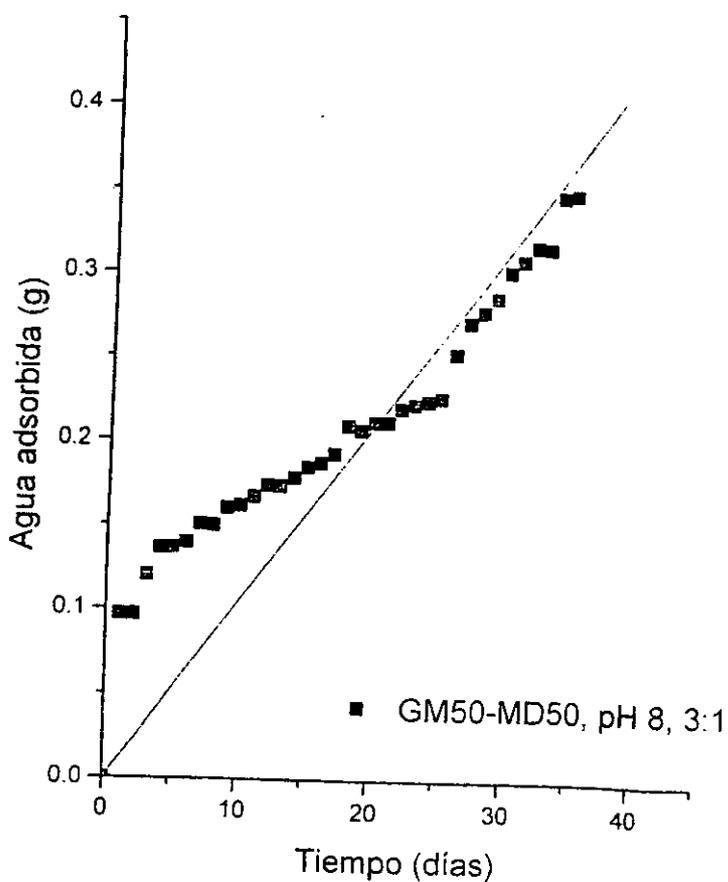
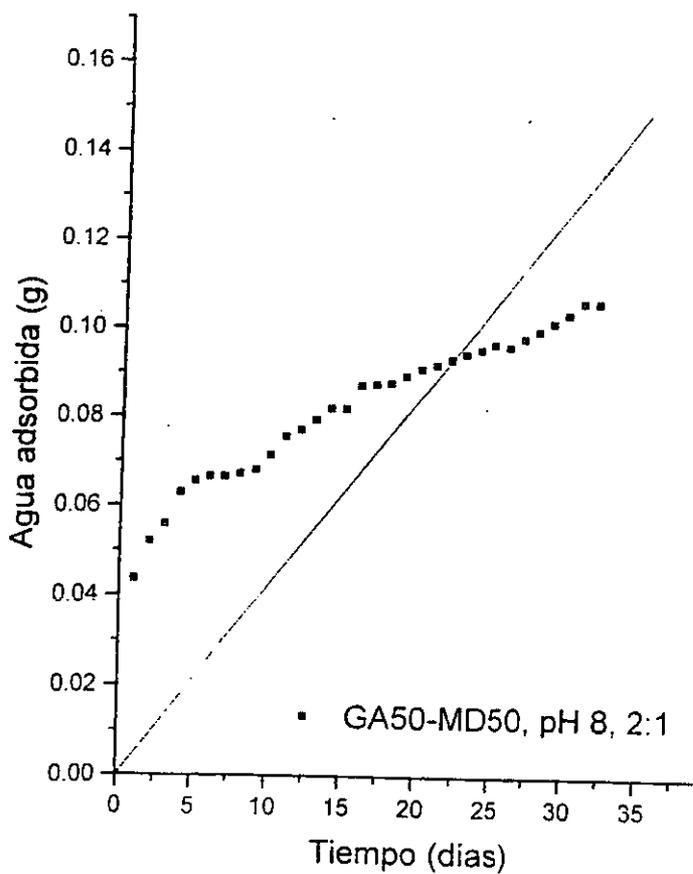
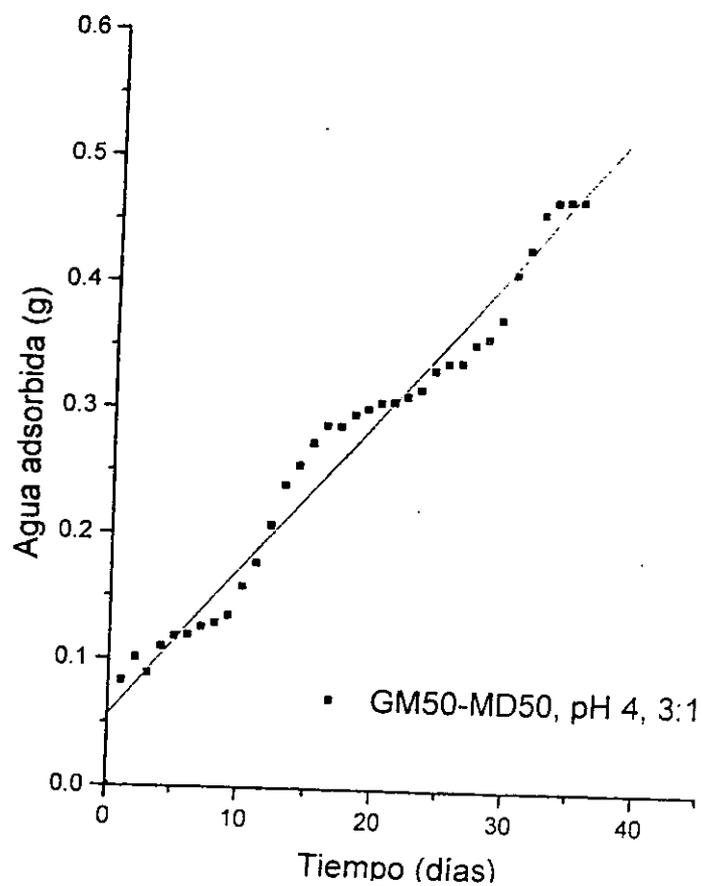
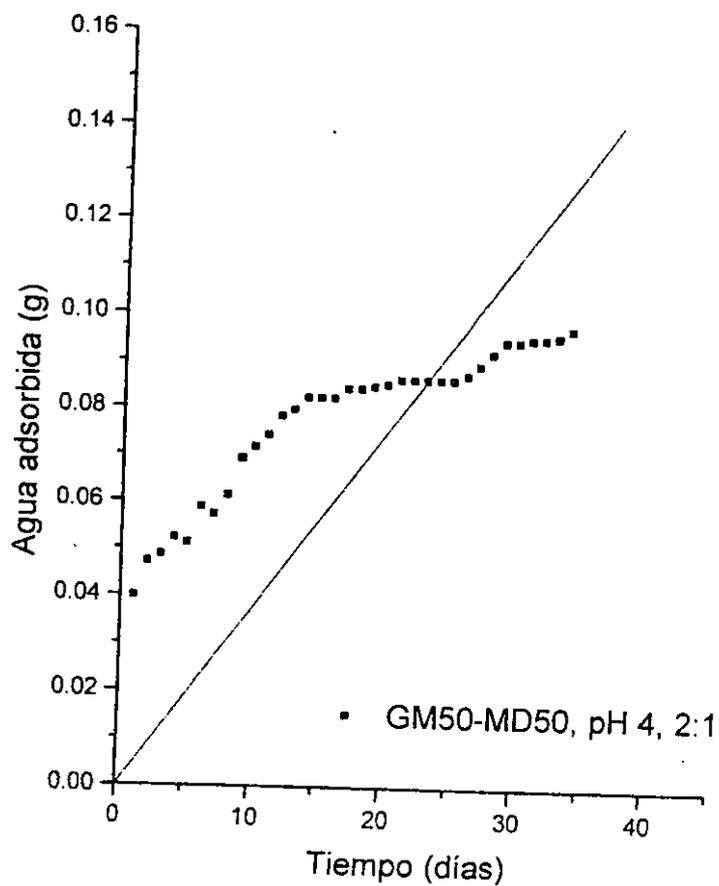


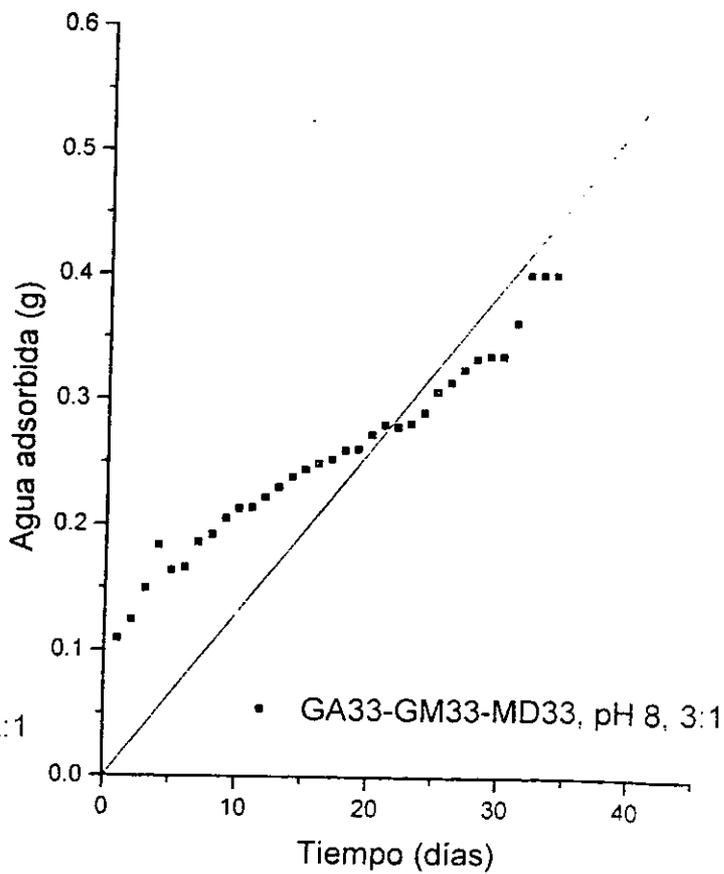
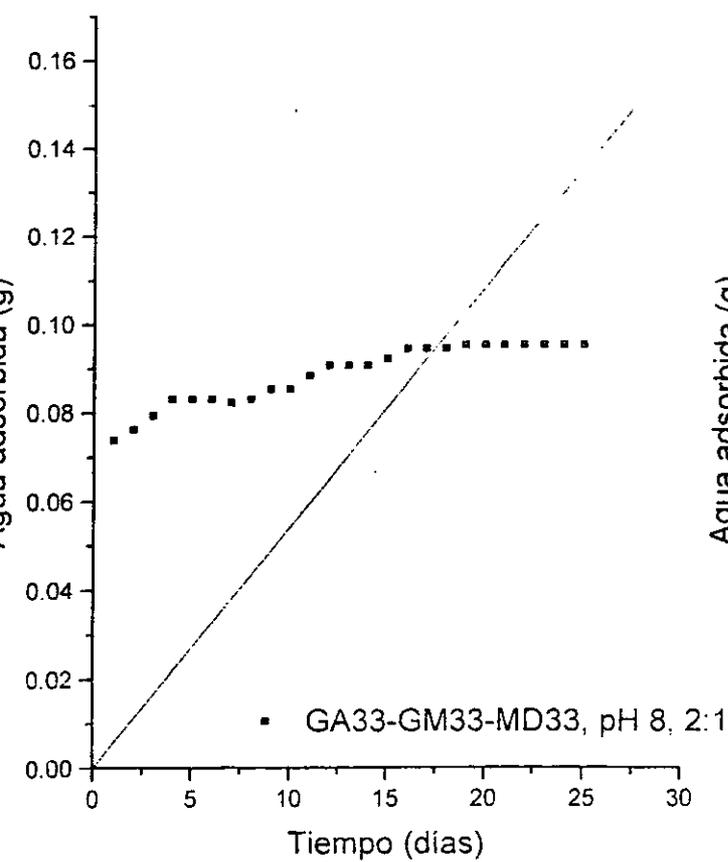
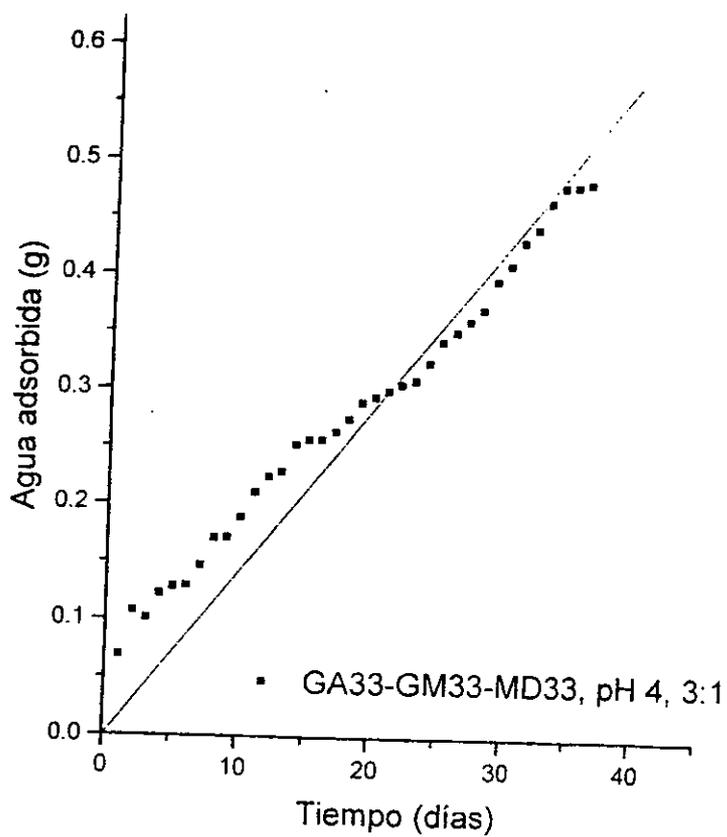
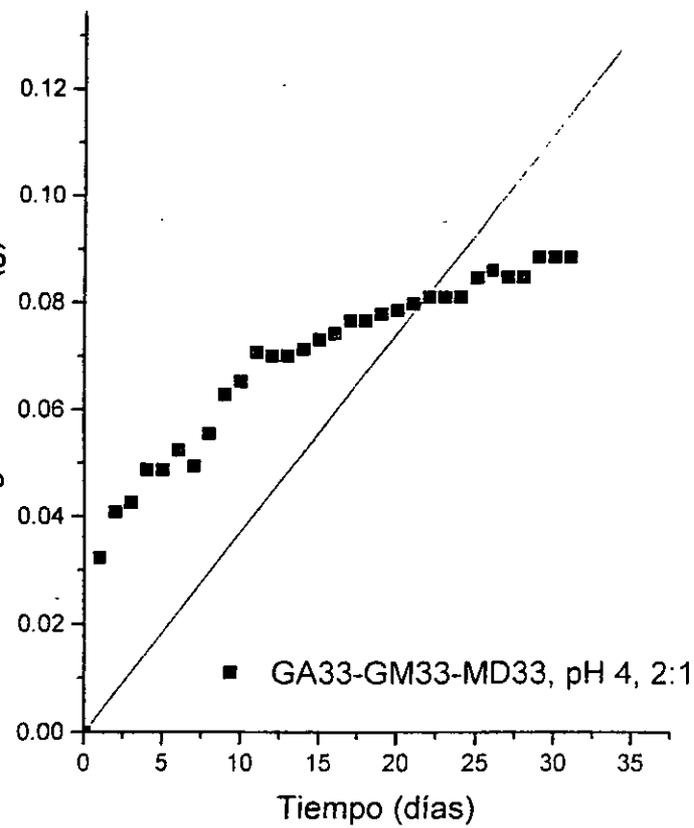


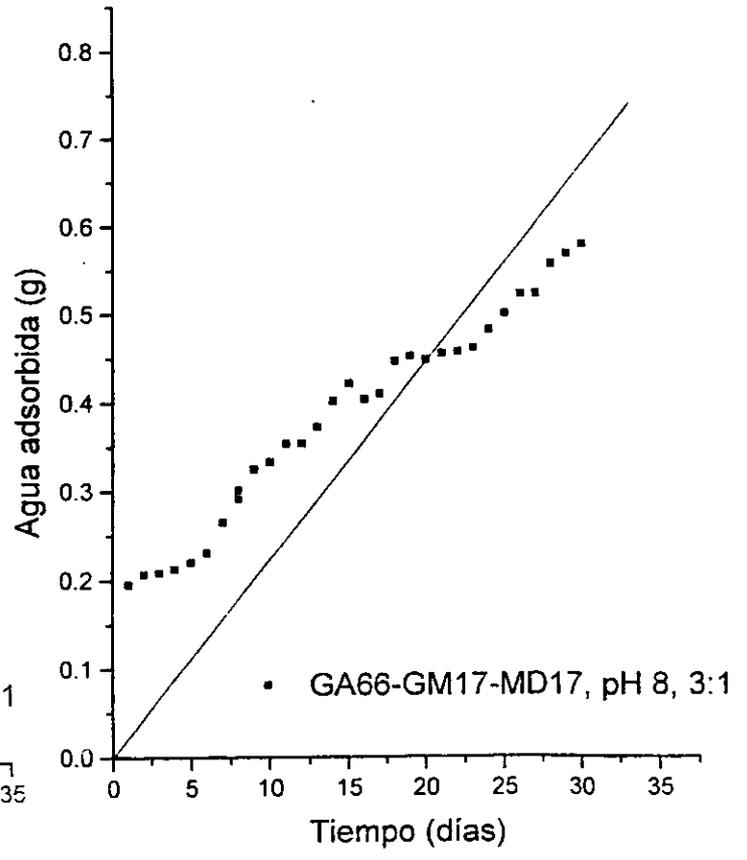
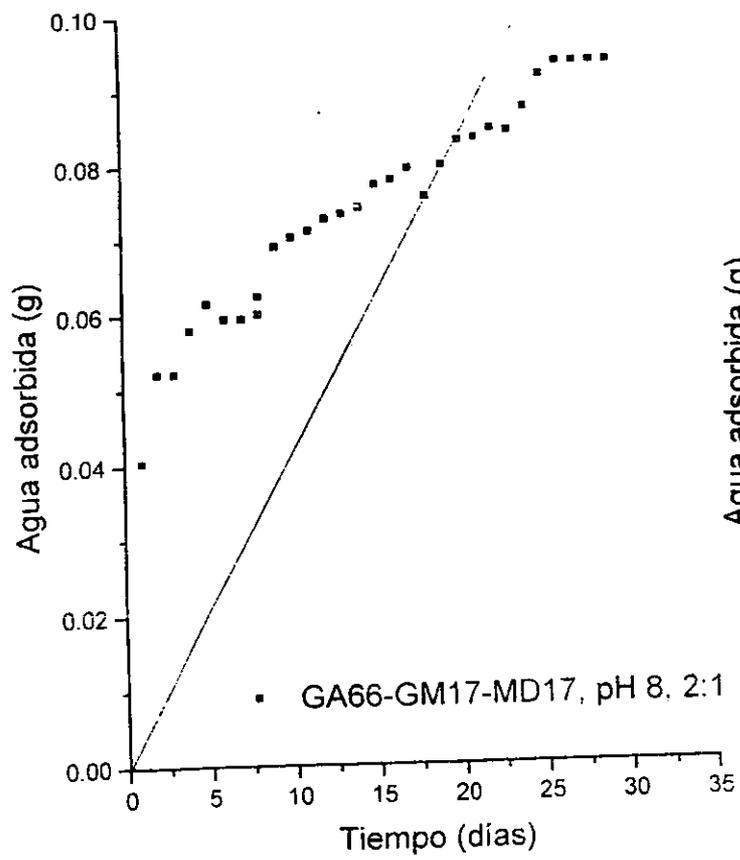
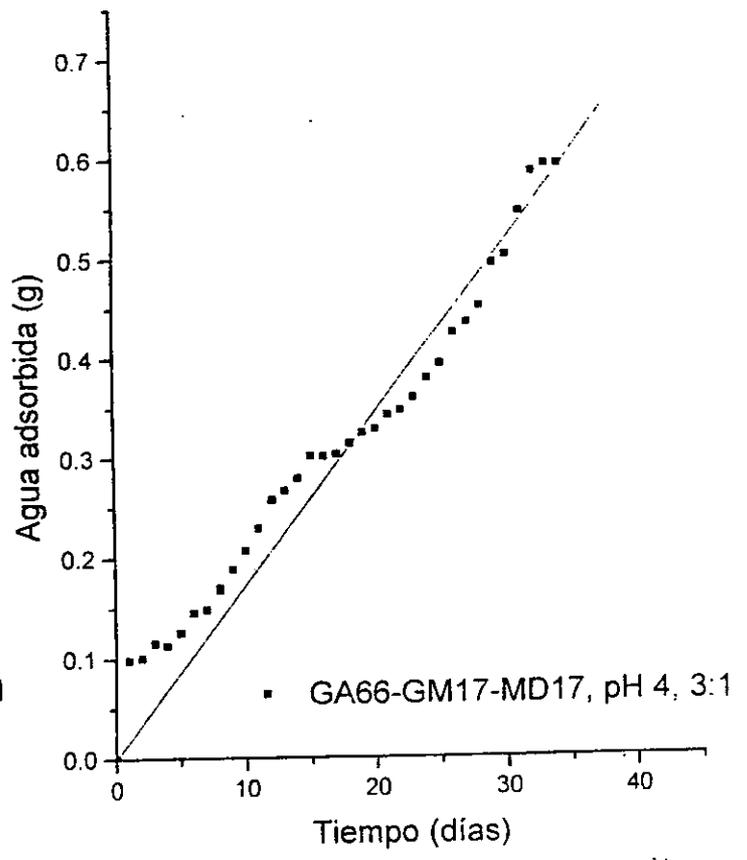
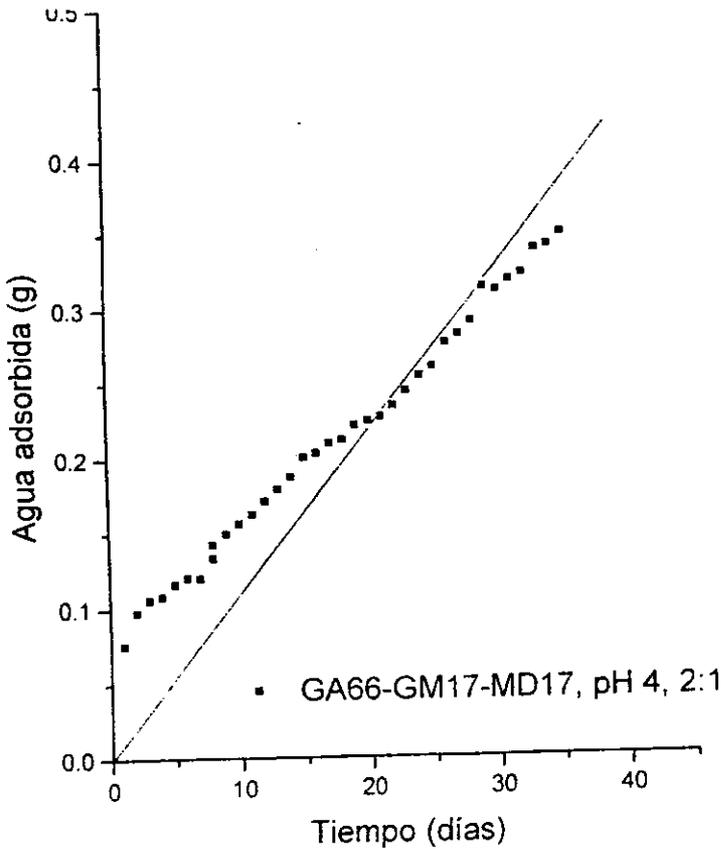


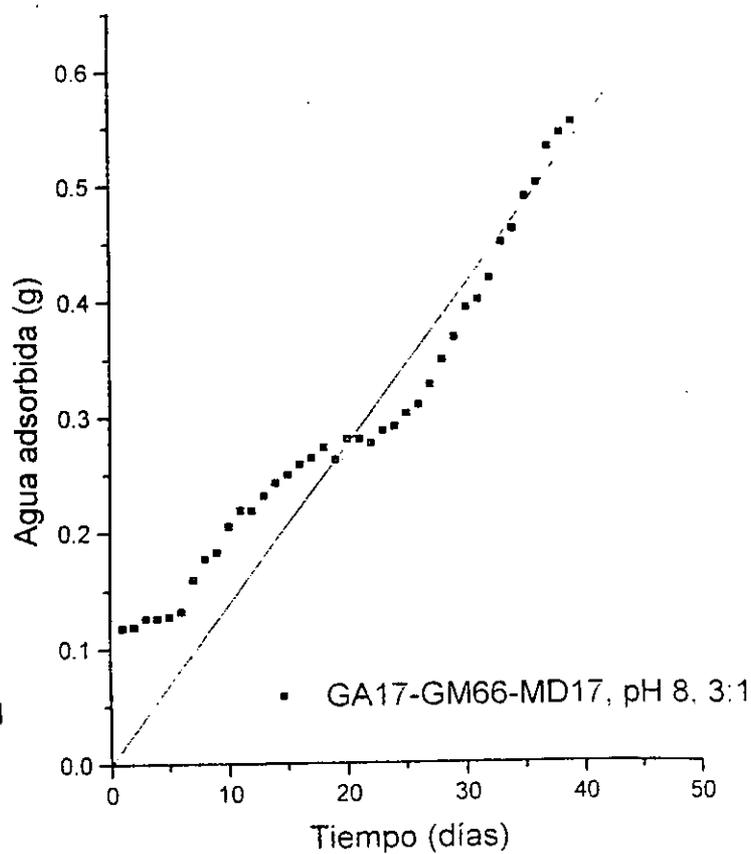
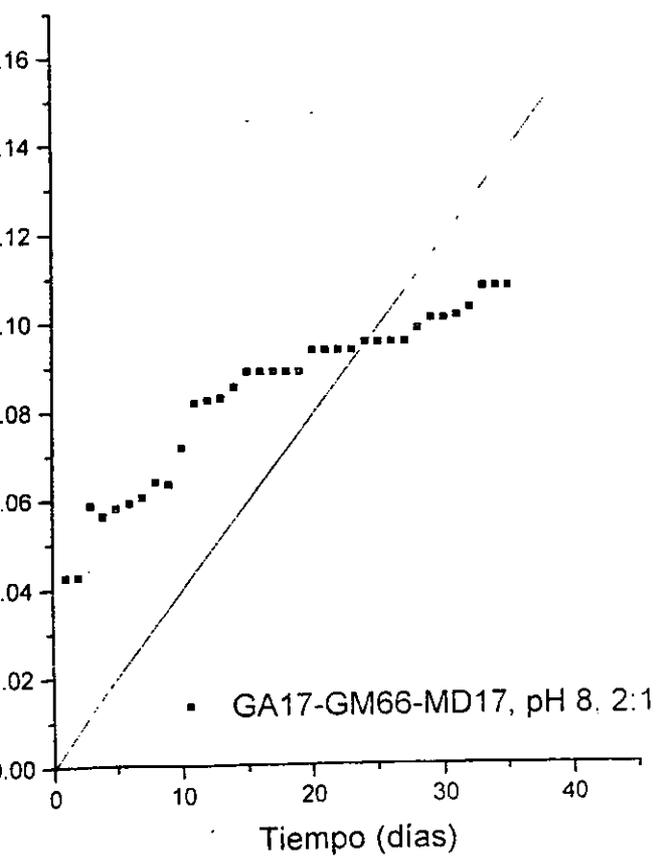
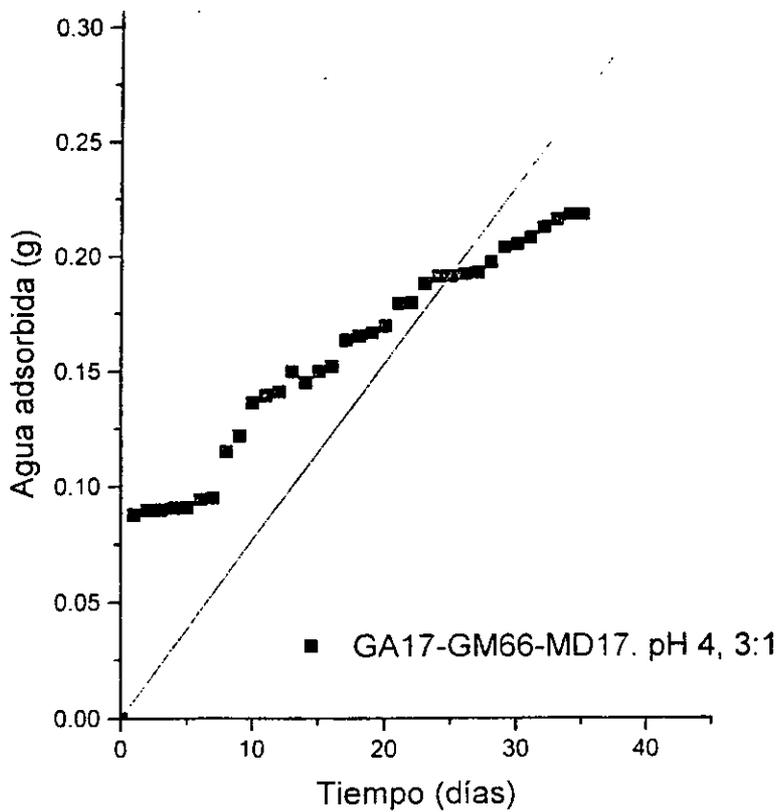
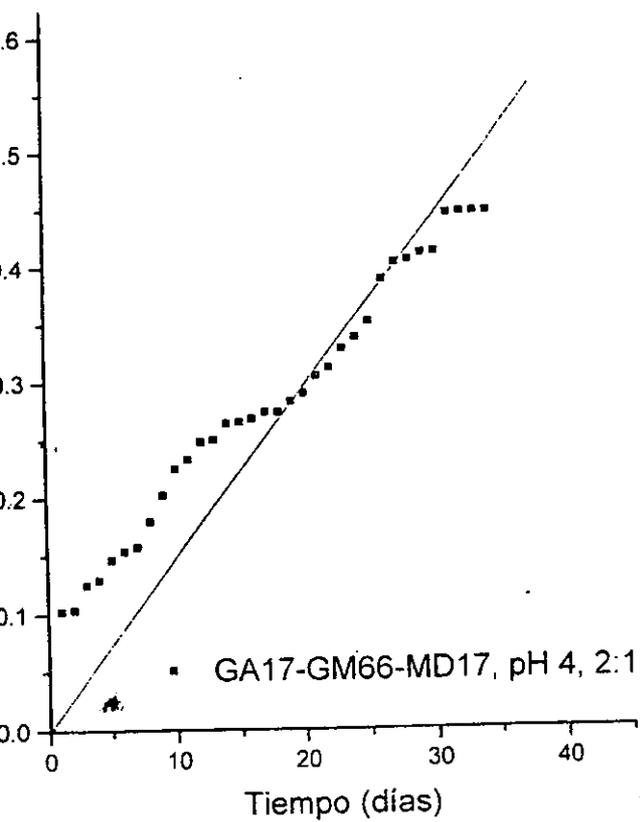


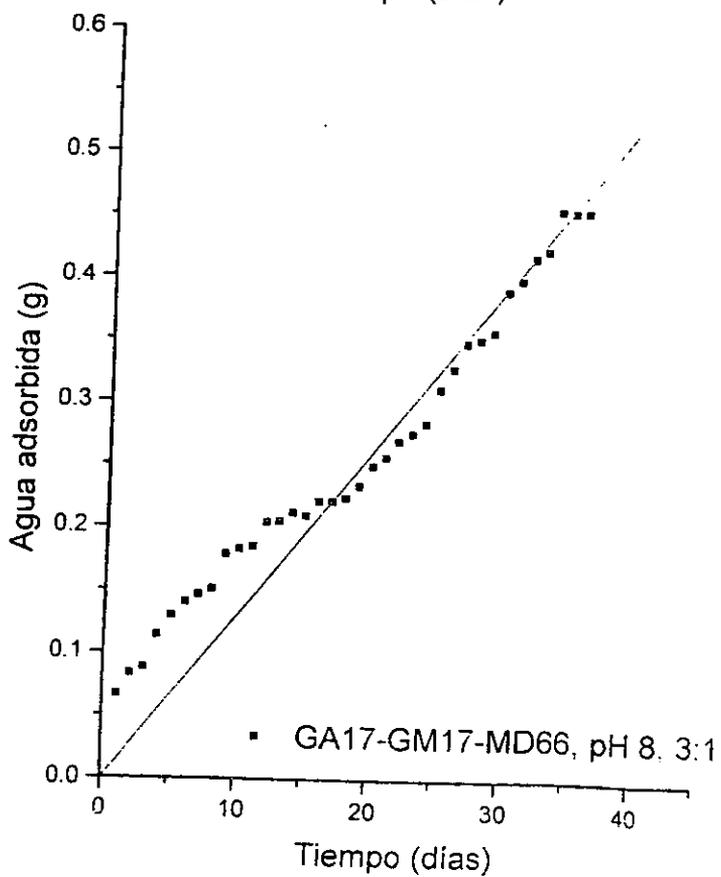
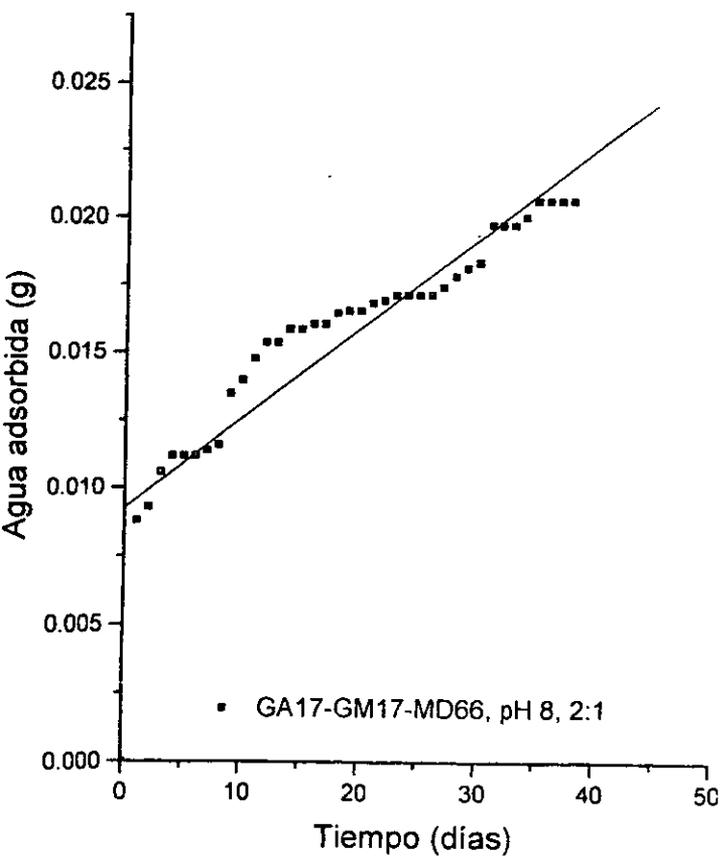
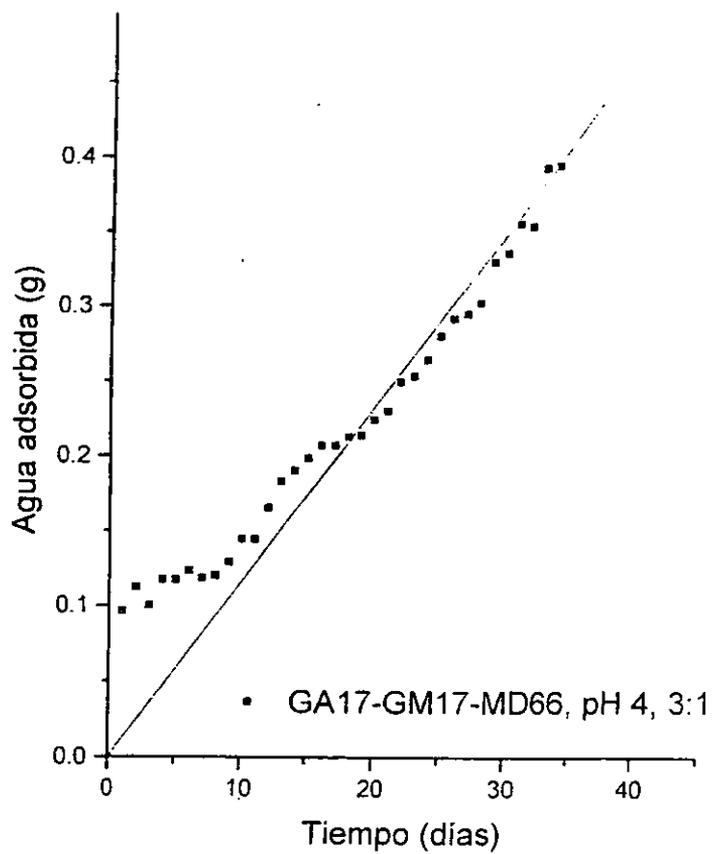
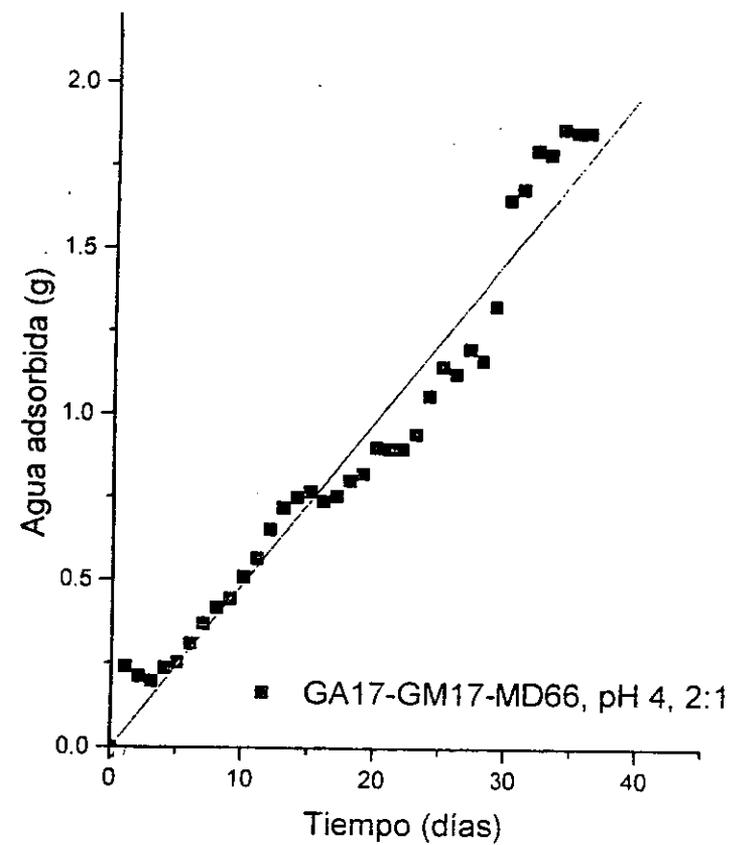




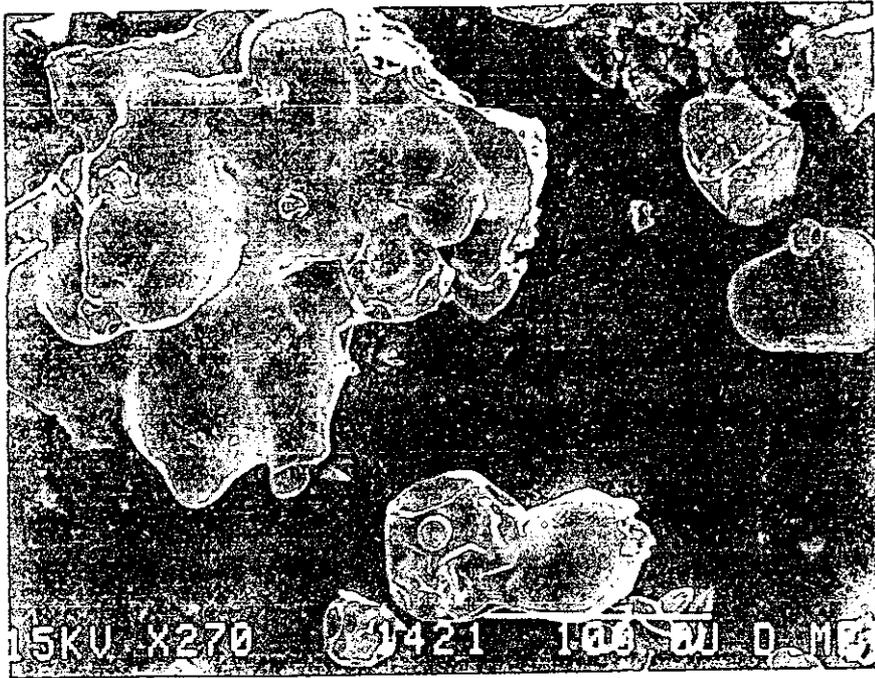




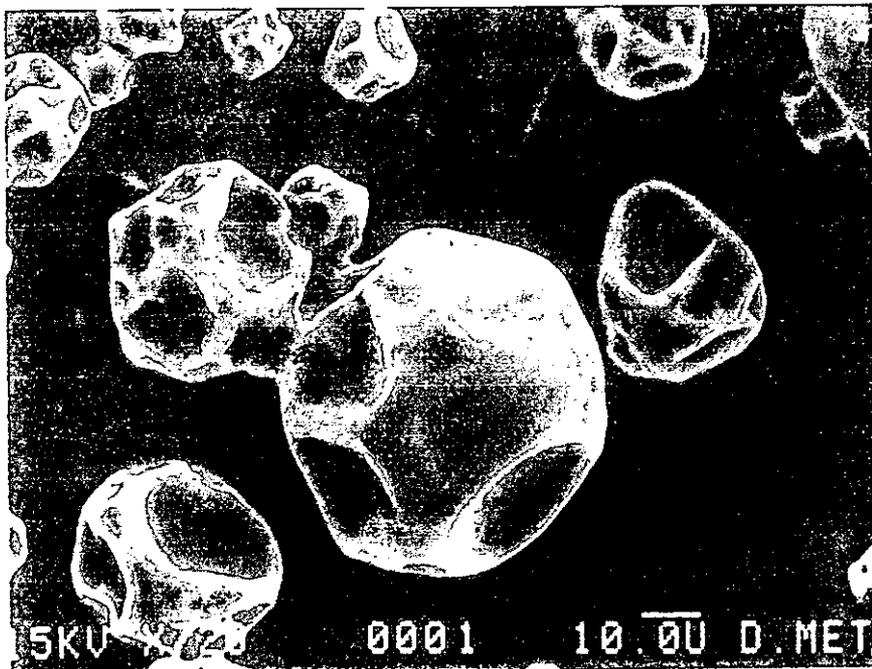




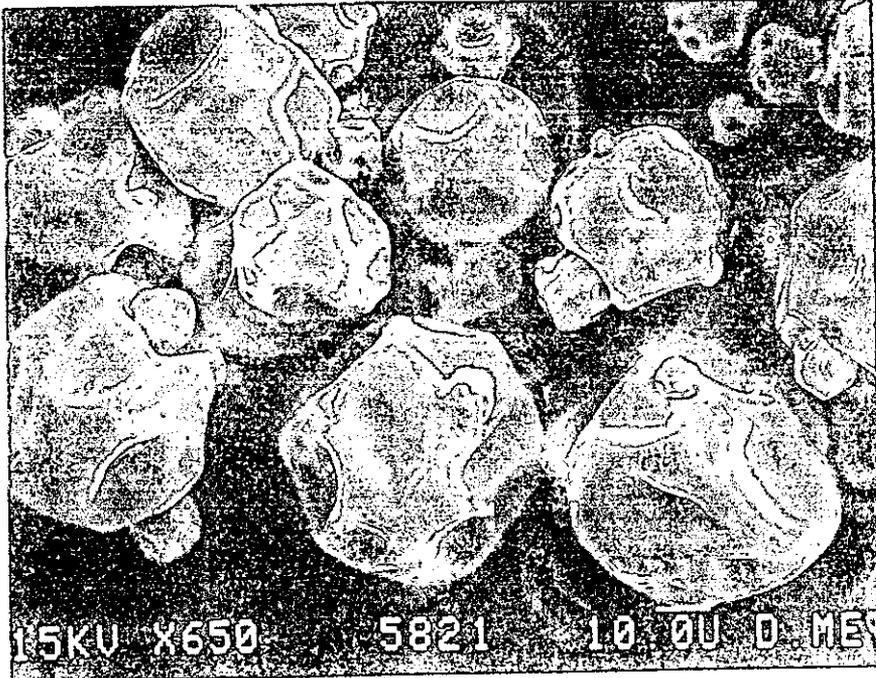
APÉNDICE 9
**Micrografías de los tratamientos después de haber sometido a las
microcápsulas a una atmósfera de 74% H.R.**



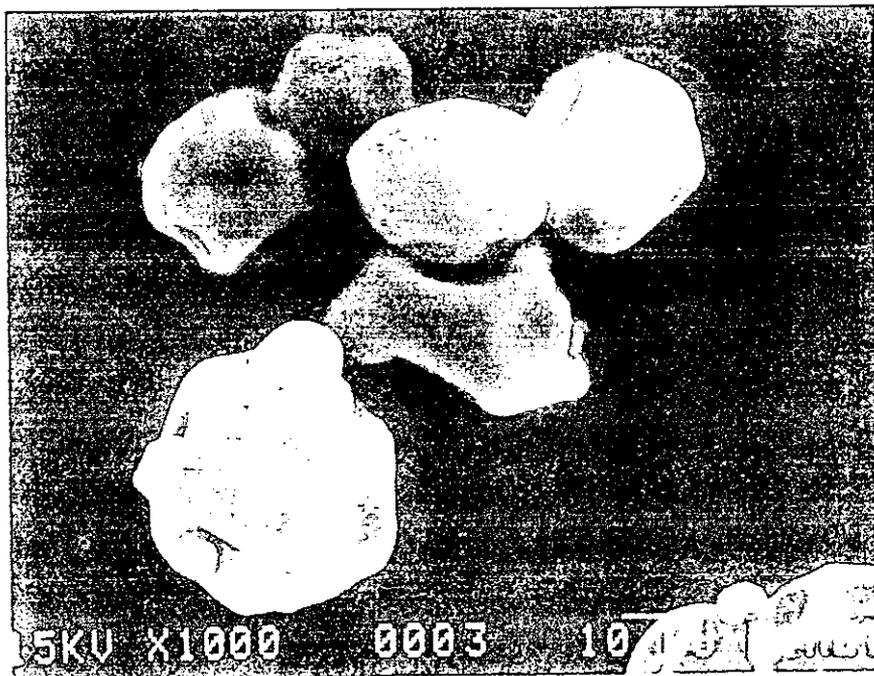
GA100 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



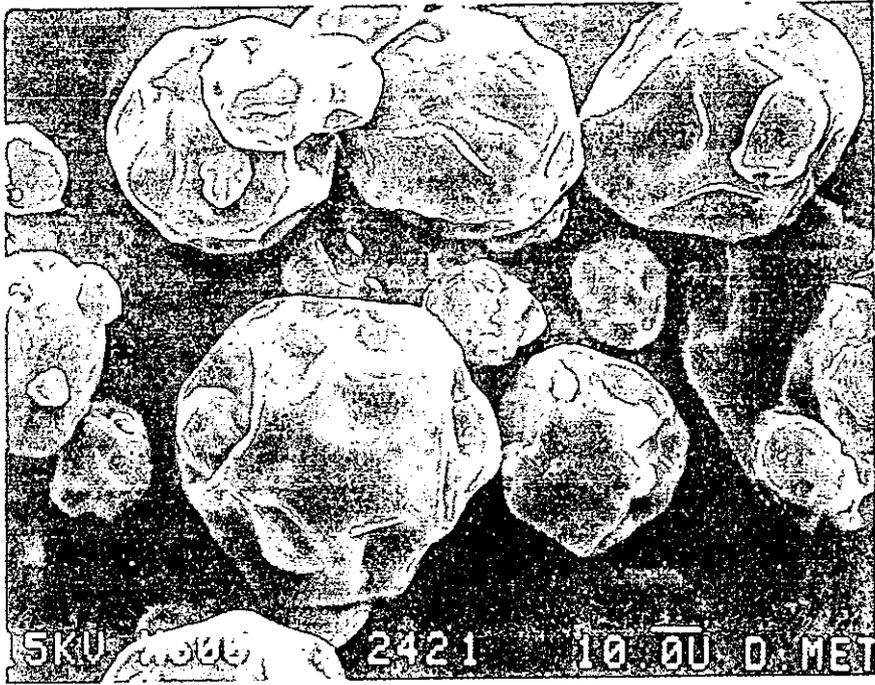
GA100 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



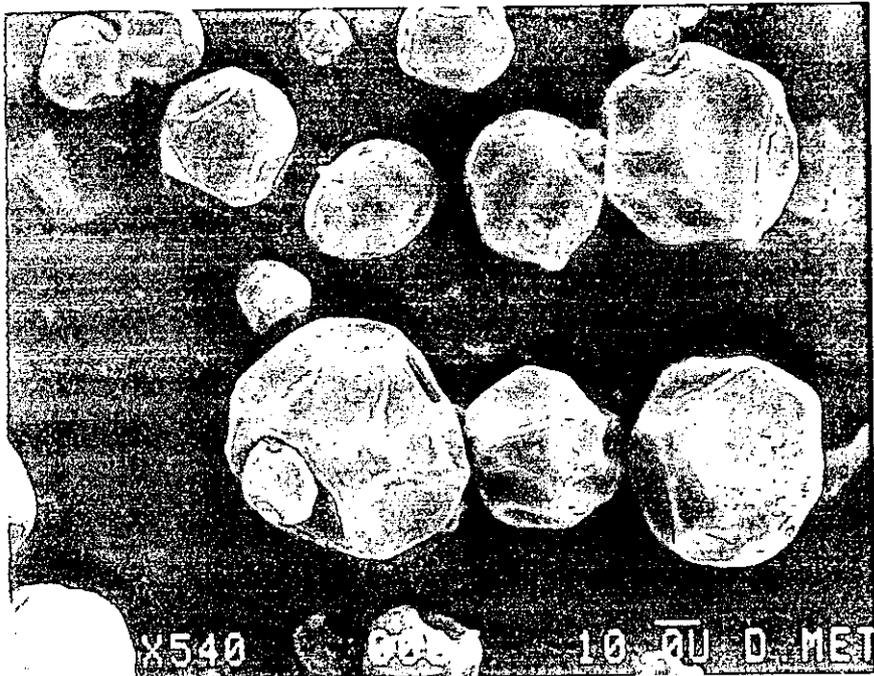
GA100 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



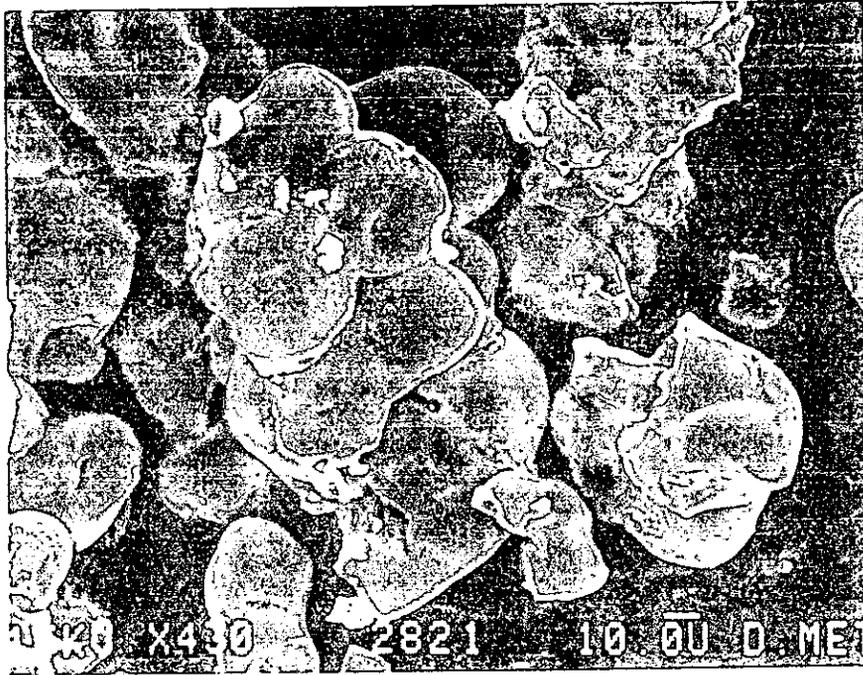
GA100 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



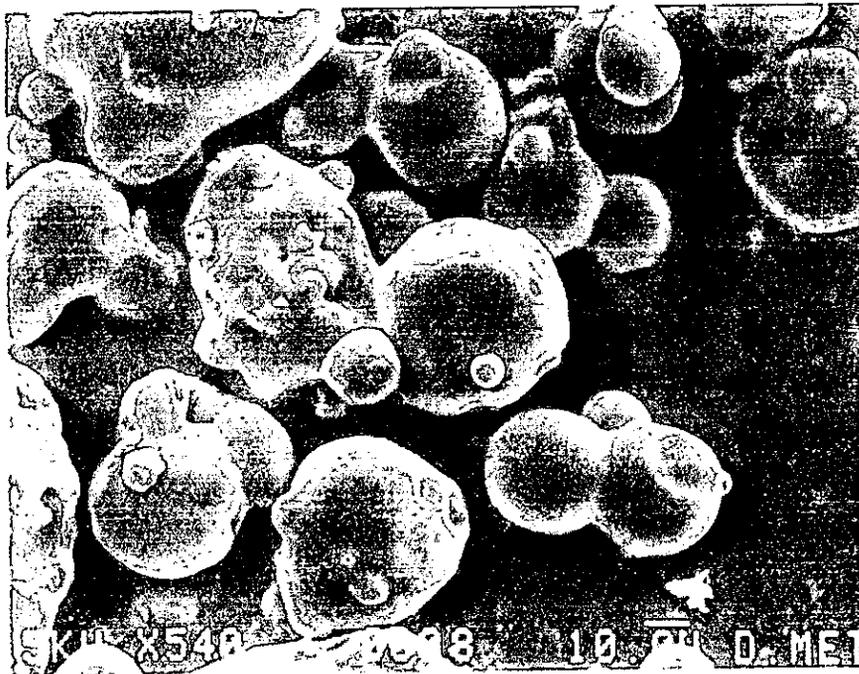
GM100 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



GM100 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



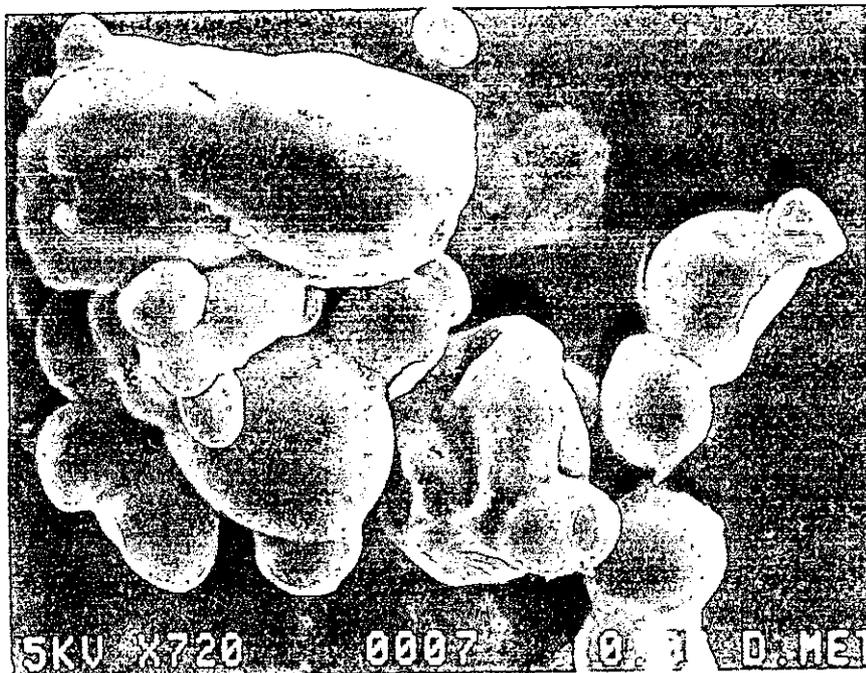
GM100 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



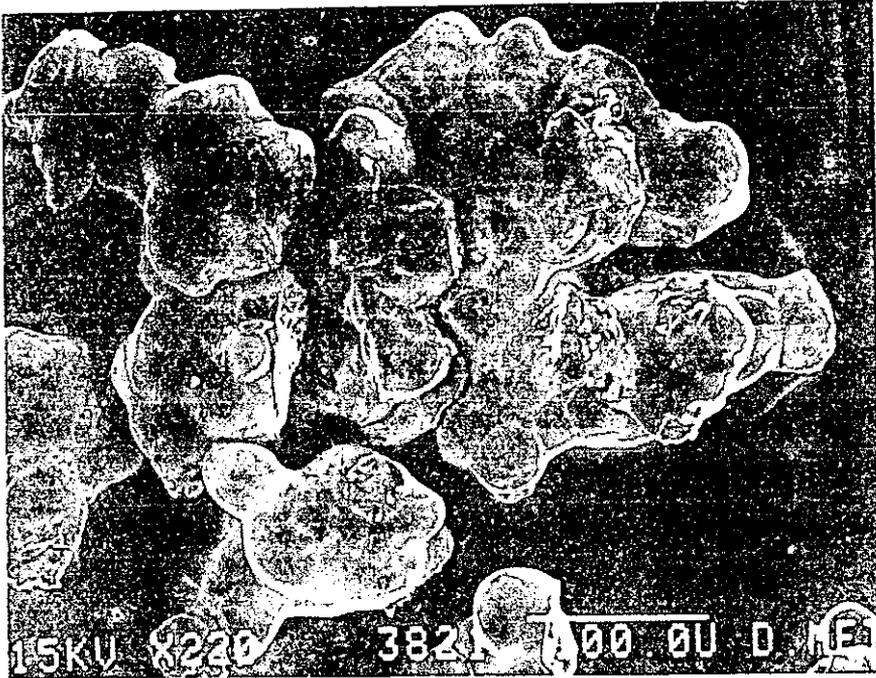
GM100 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



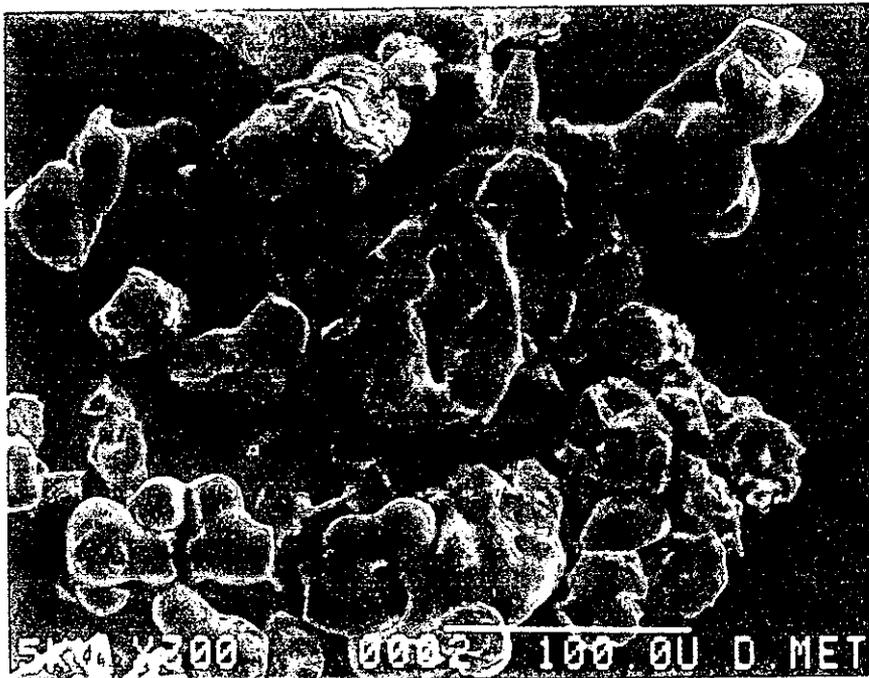
MD100 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



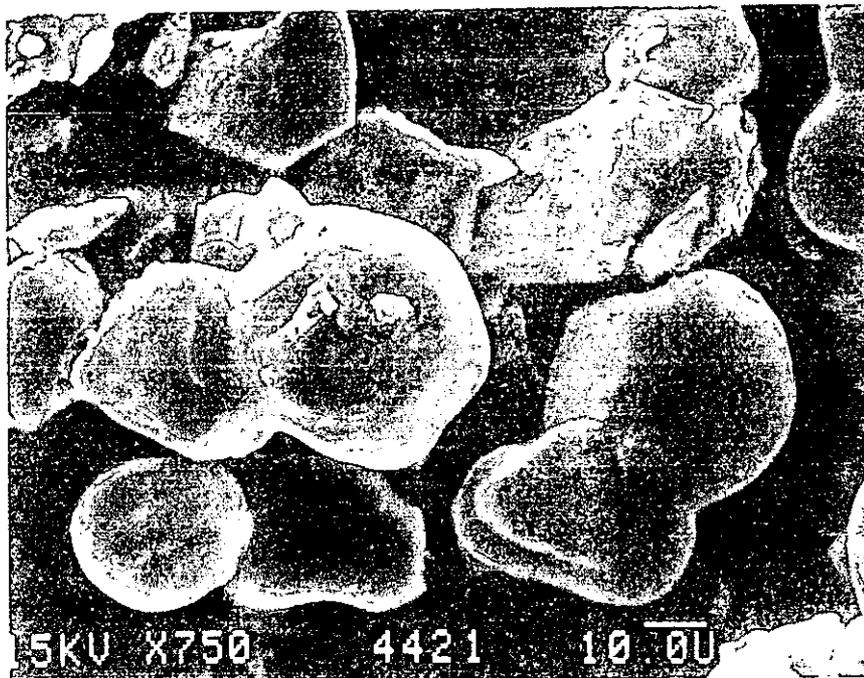
MD100 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



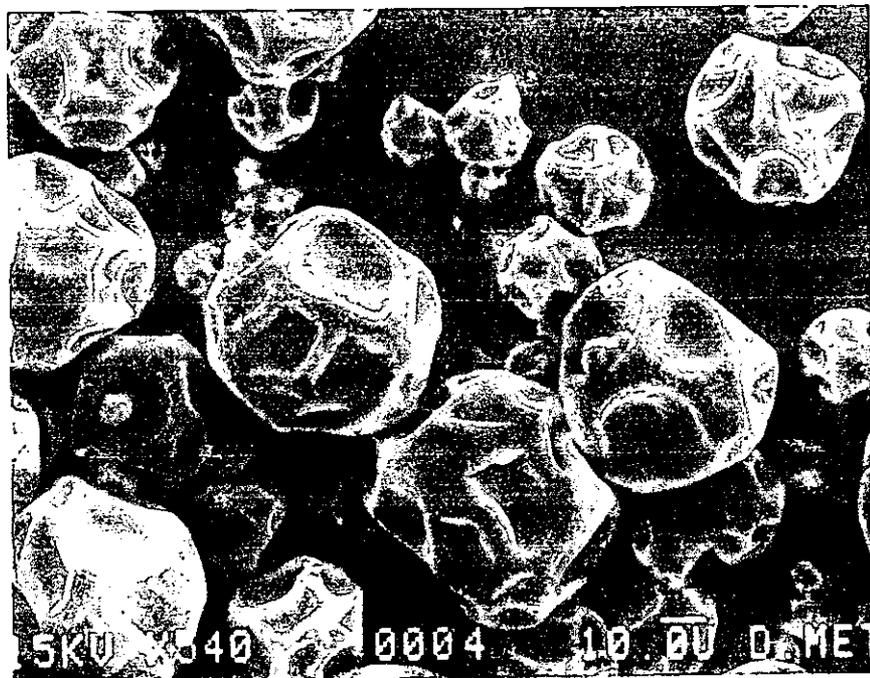
MD100 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



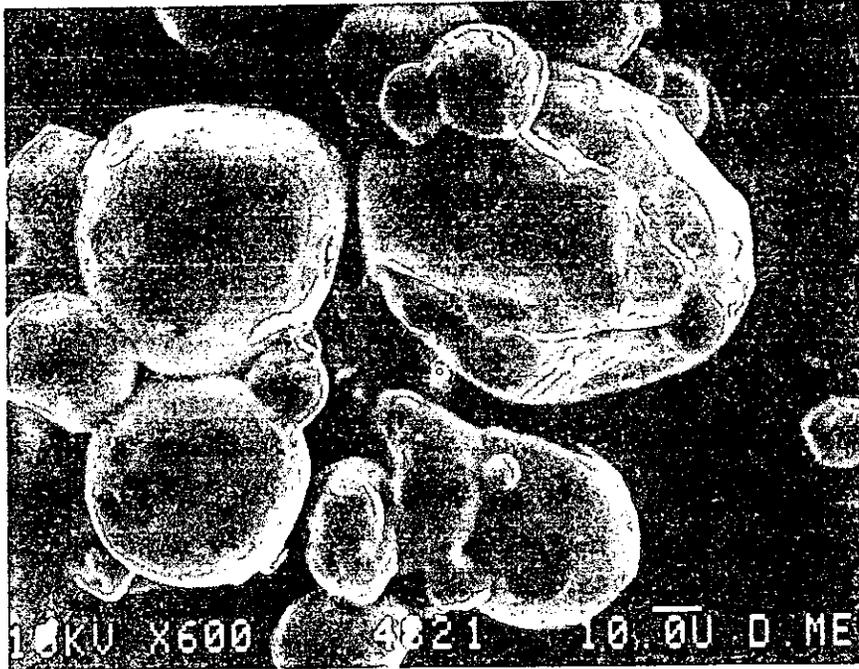
MD100 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



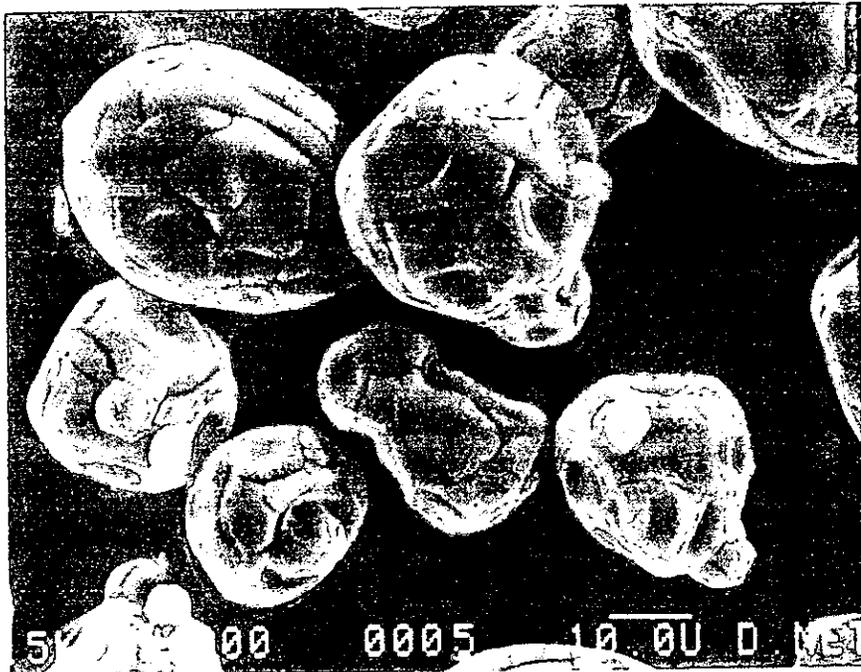
GA50-GM50 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



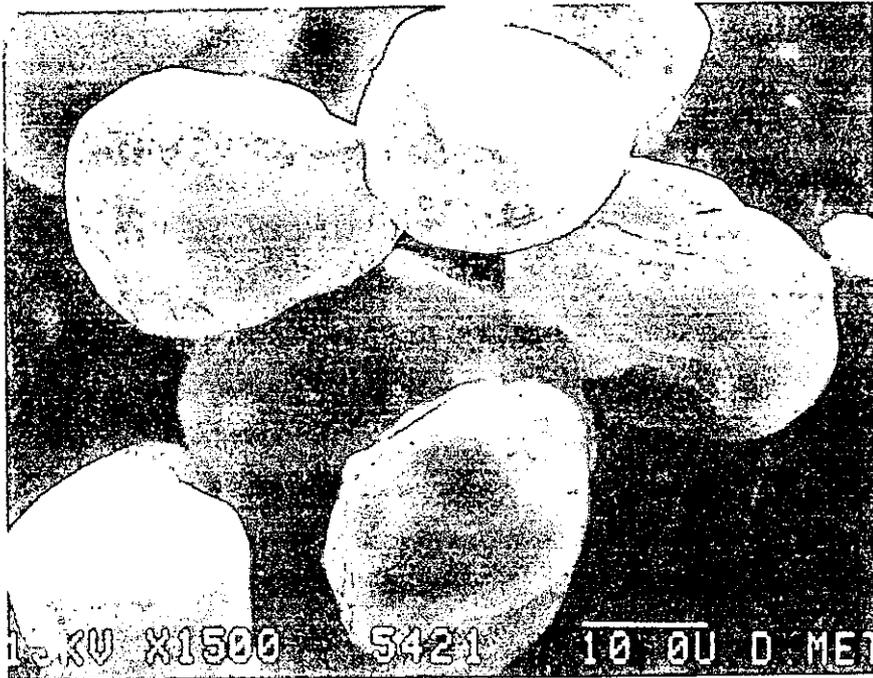
GA50-GM50 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



GA50-GM50 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



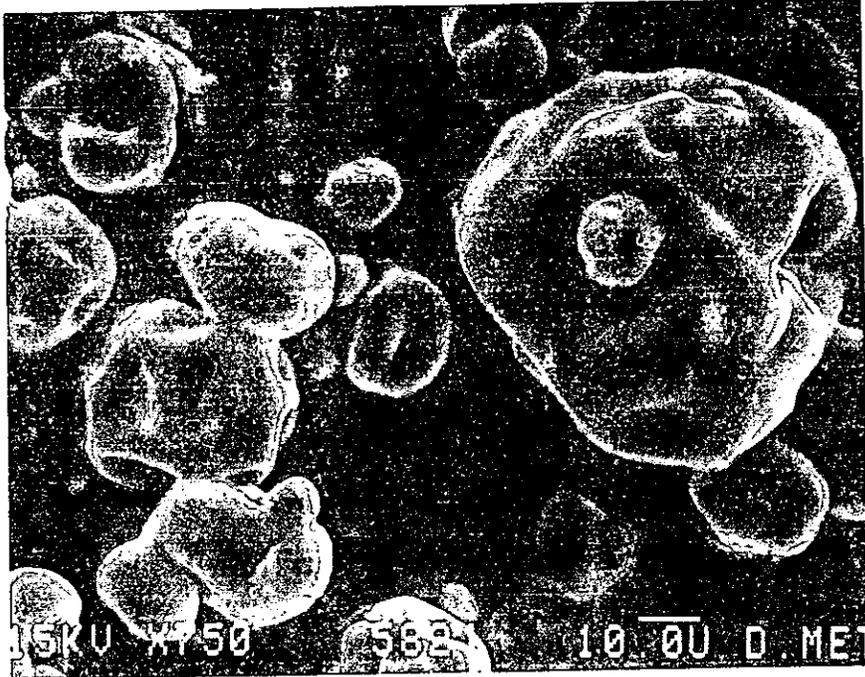
GA50-GM50-pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



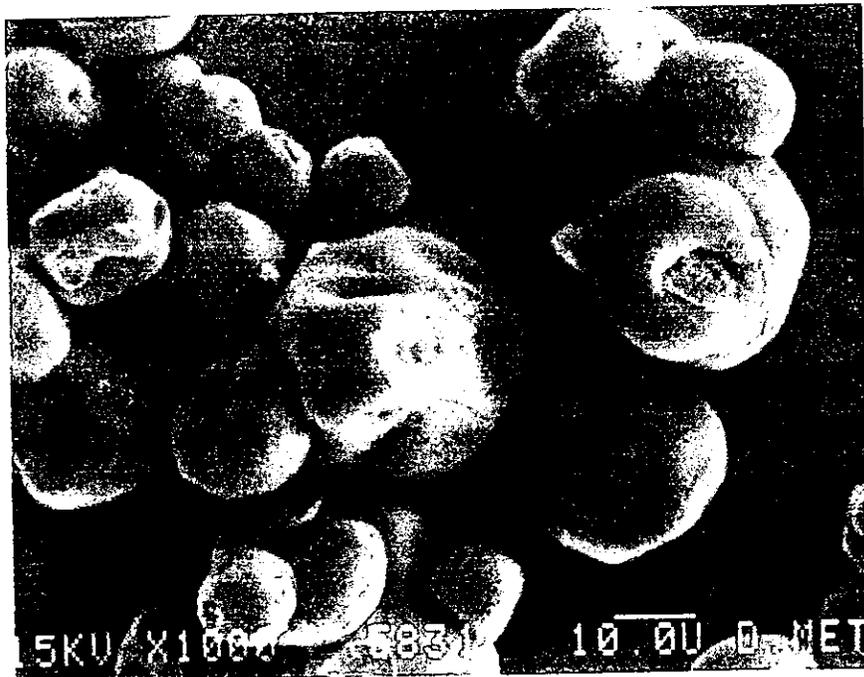
GA50-MD50 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



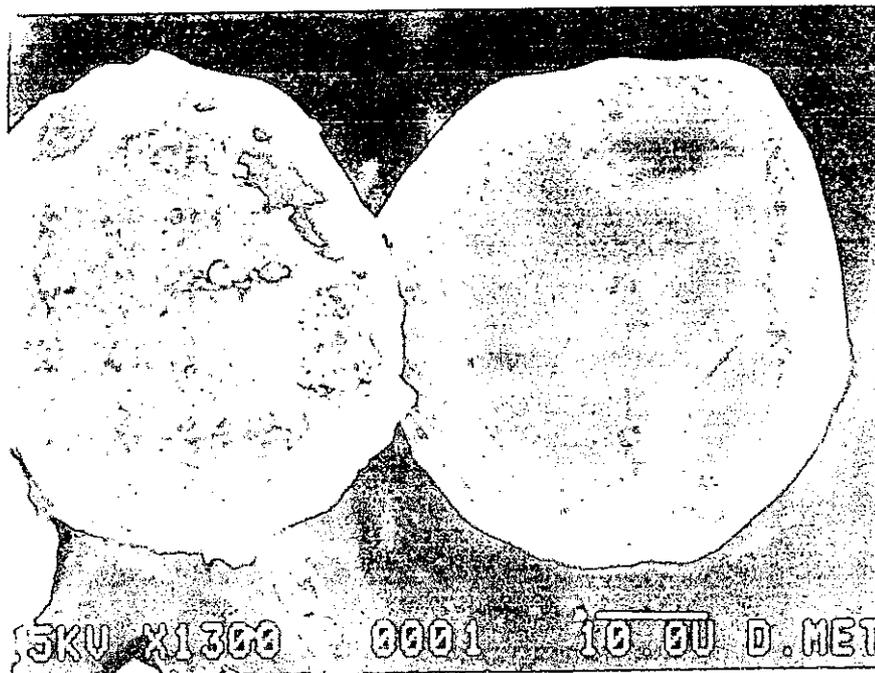
GA50-MD50 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



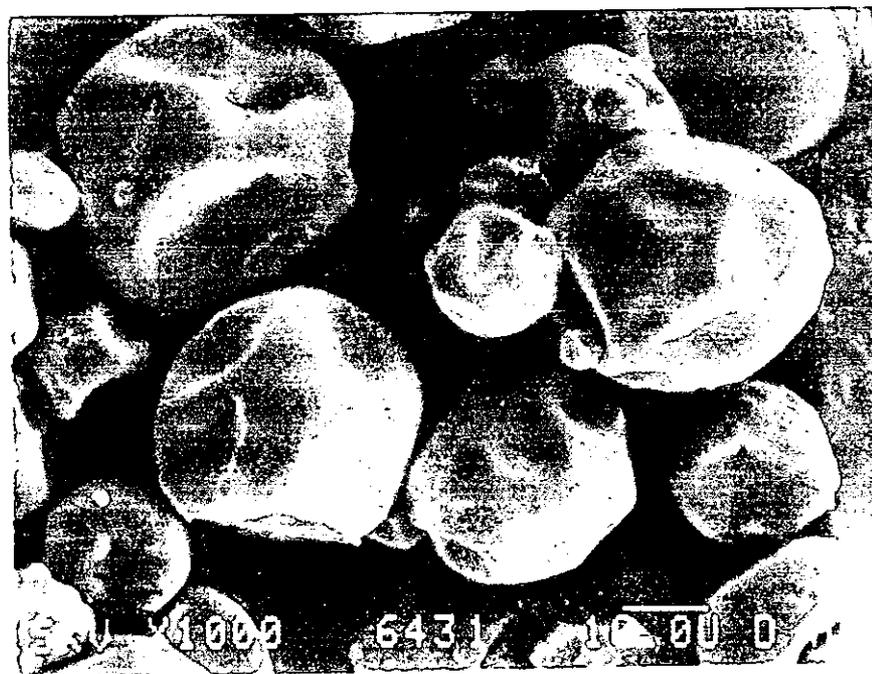
GA50-MD50 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



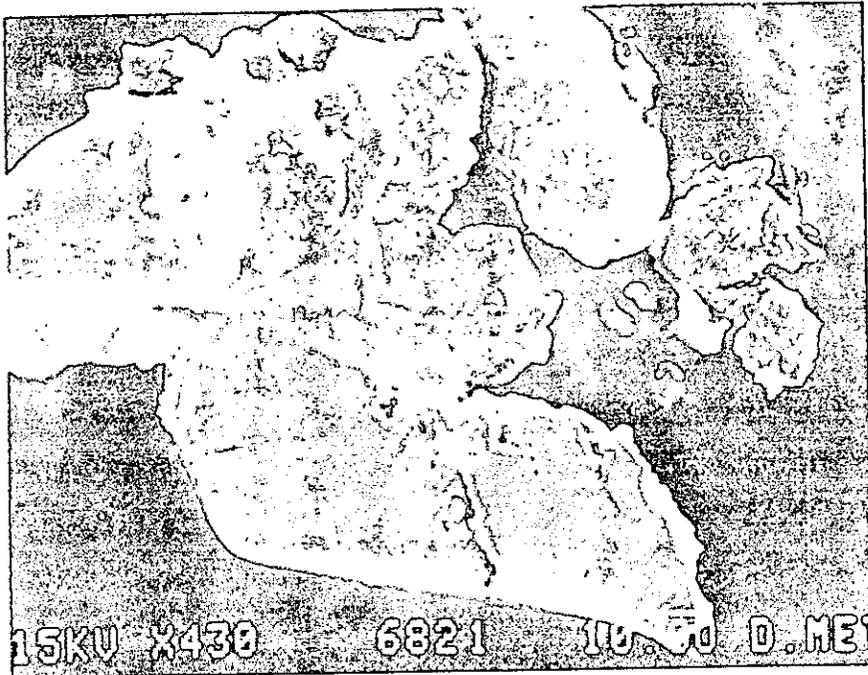
GA50-MD50 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



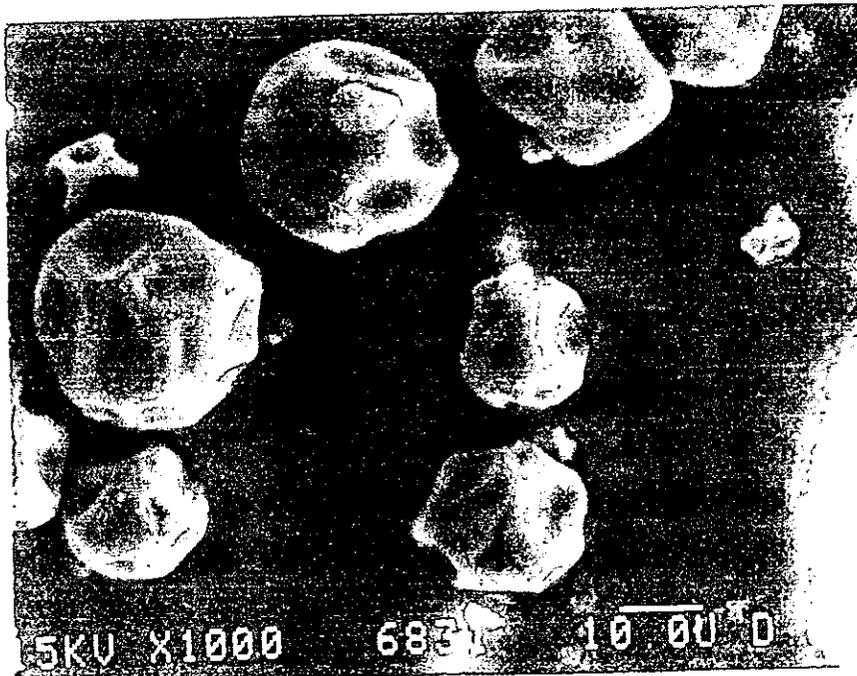
GM50-MD50 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



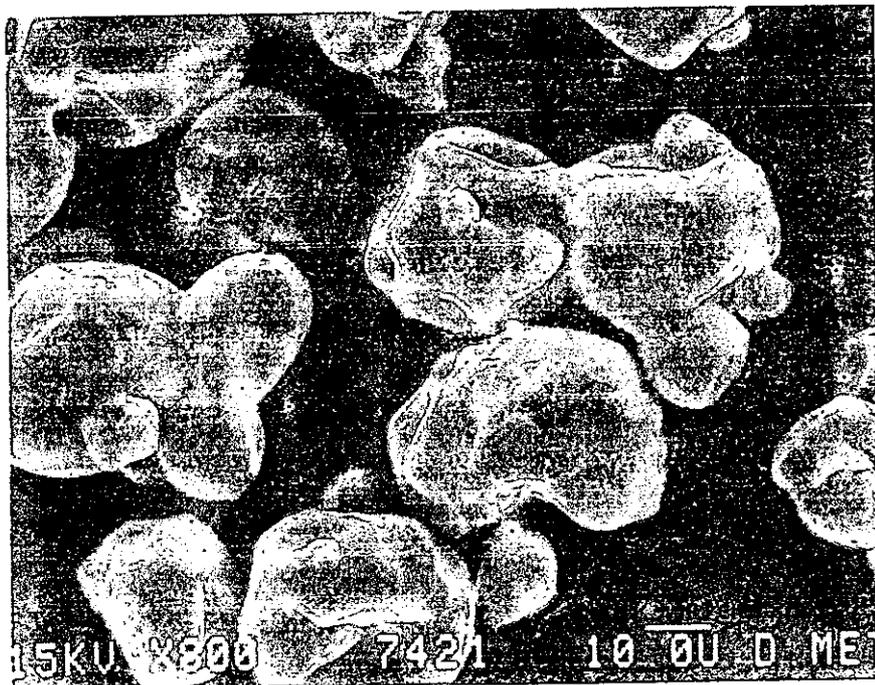
GM50-MD50 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



GM50-MD50 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



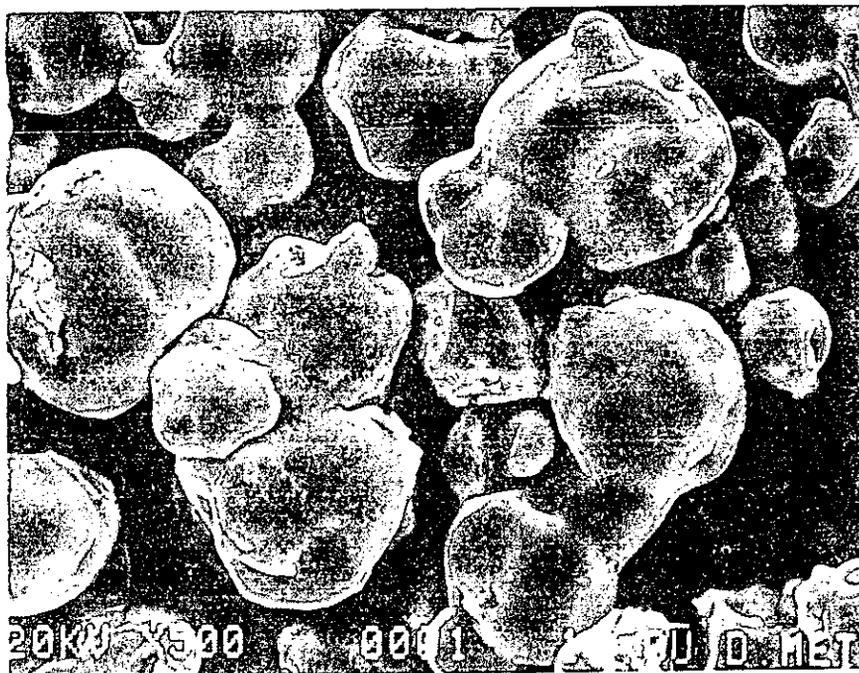
GM50-MD50 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



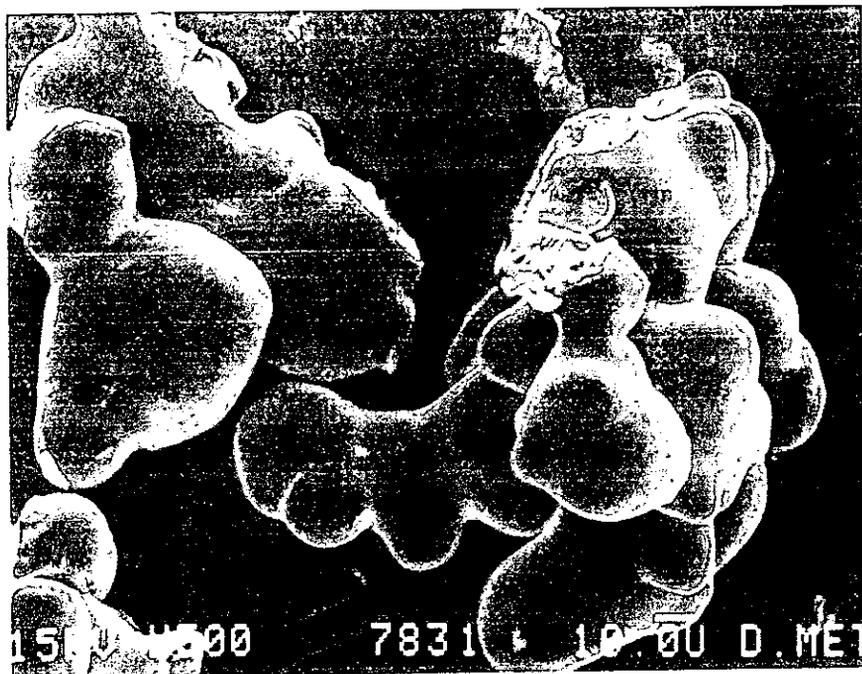
GA33-GM33-MD33 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



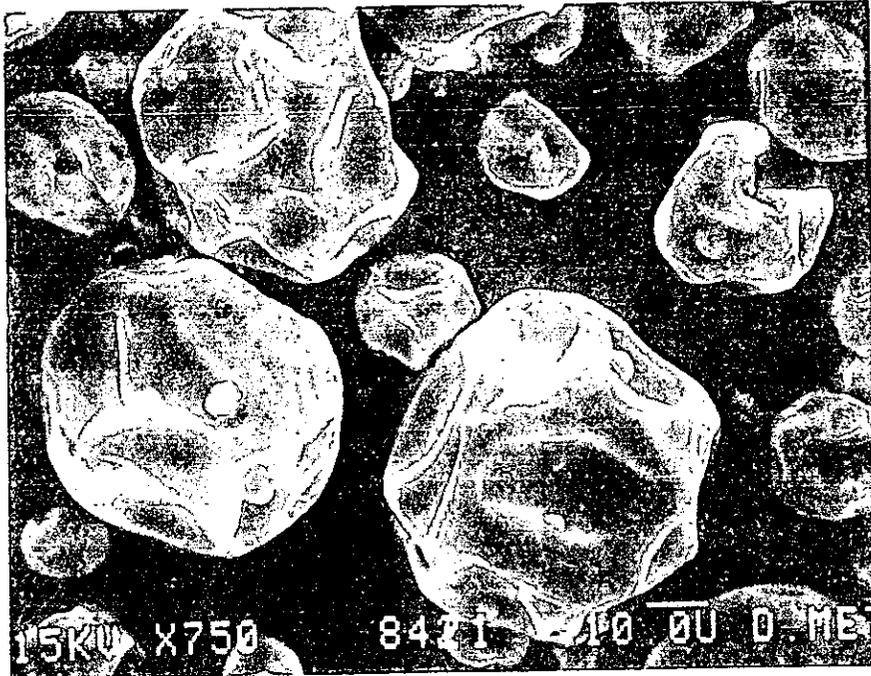
GA33-GM33-MD33 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



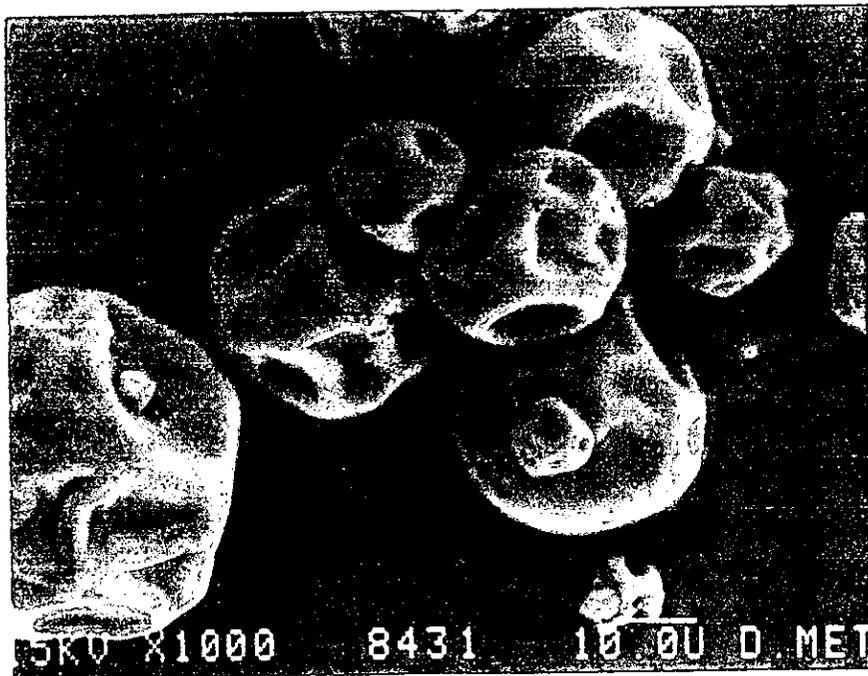
GA33-GM33-MD33 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



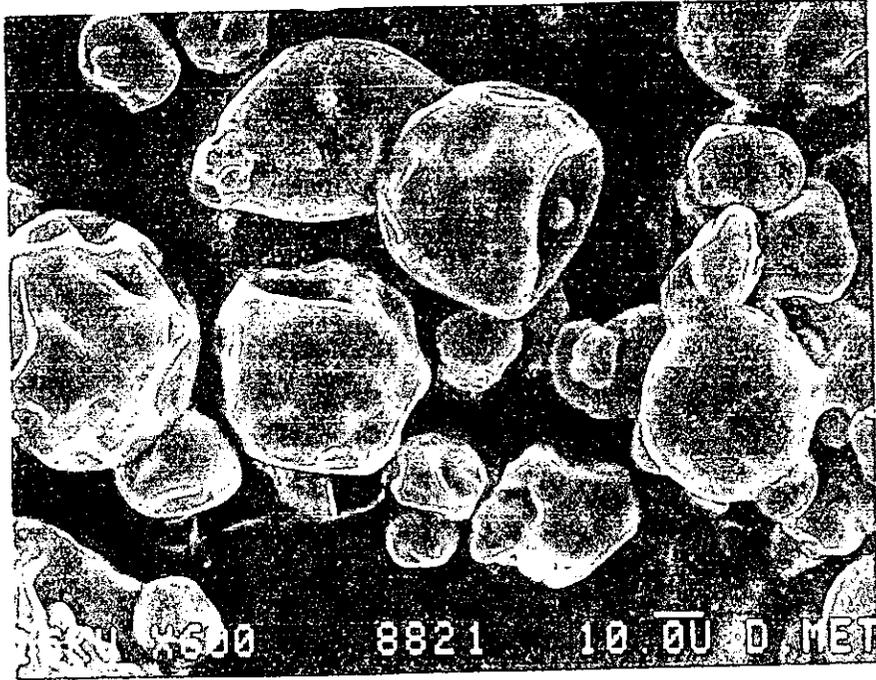
GA33-GM33-MD33 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



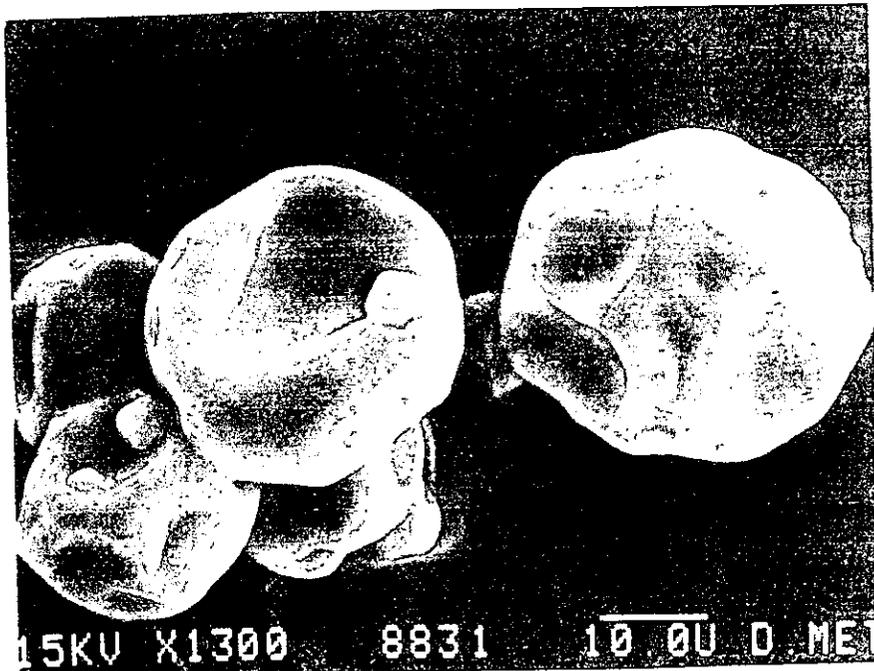
GA66-GM17-MD17 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



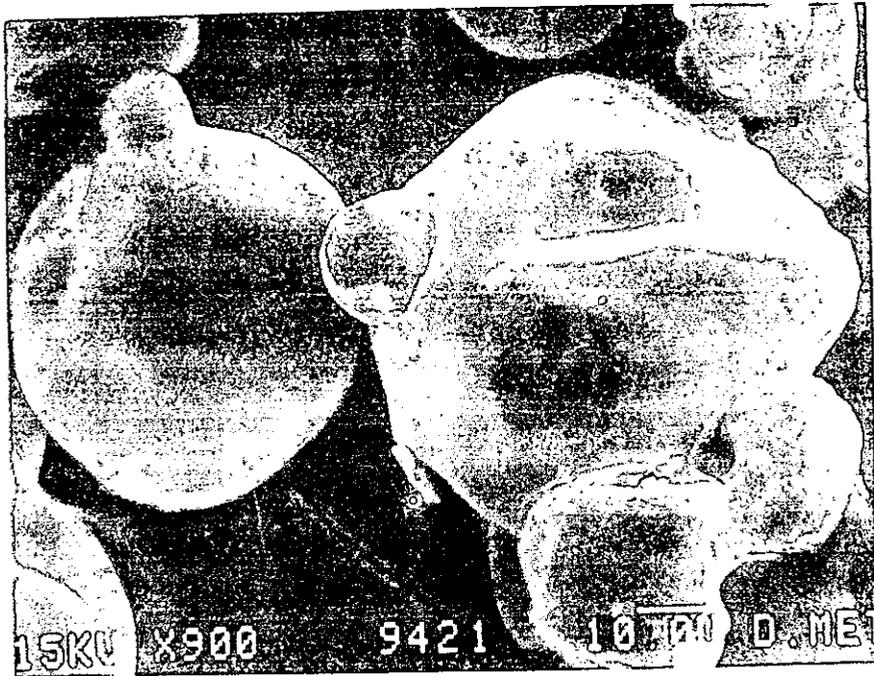
GA66.GM17-MD17 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



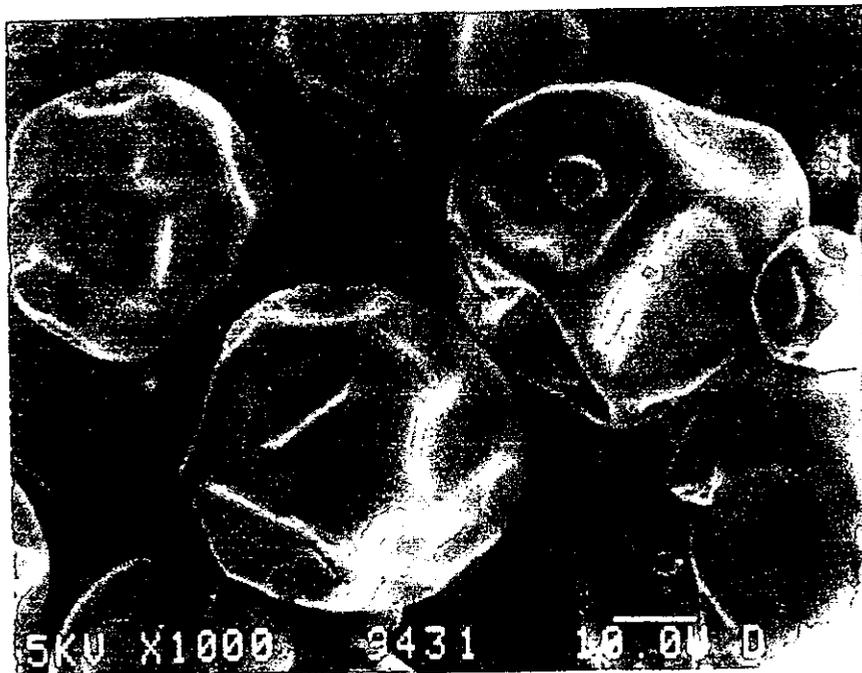
GA66-GM17-MD17 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



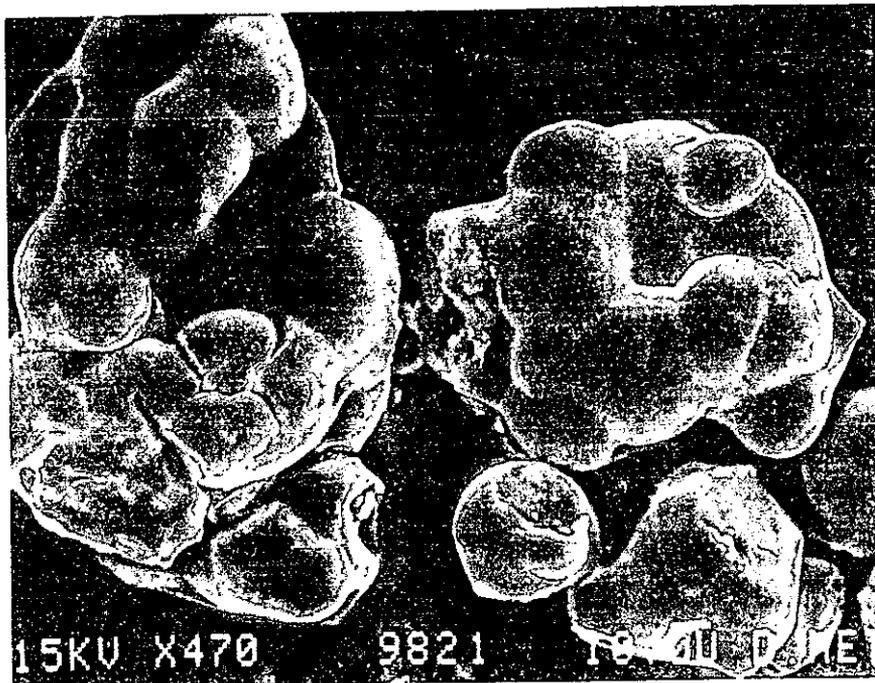
GA66-GM17-MD17 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



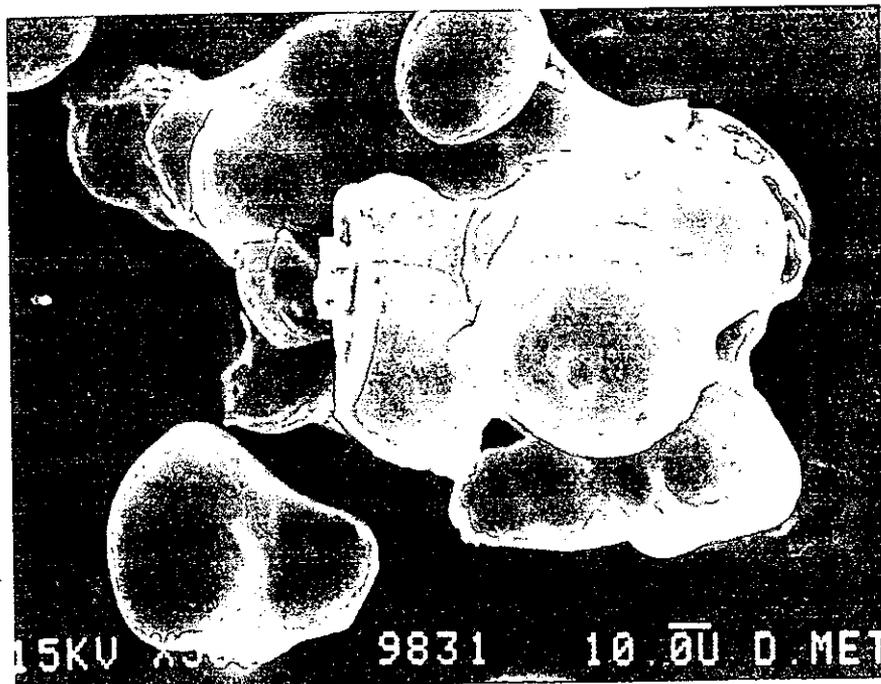
GA17-GM66-MD17 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



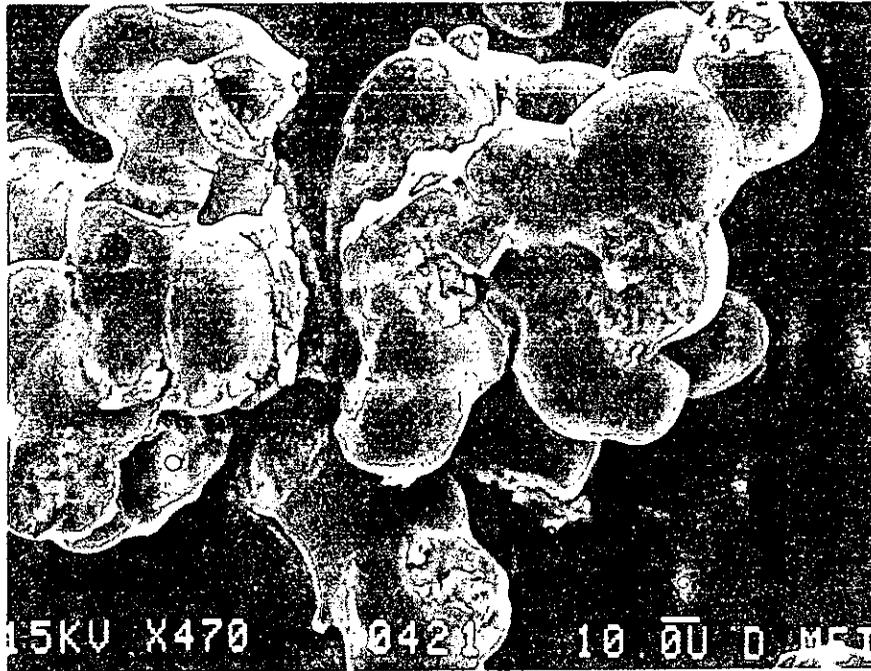
GA17-GM66-MD17 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



GA17-GM66-MD17 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



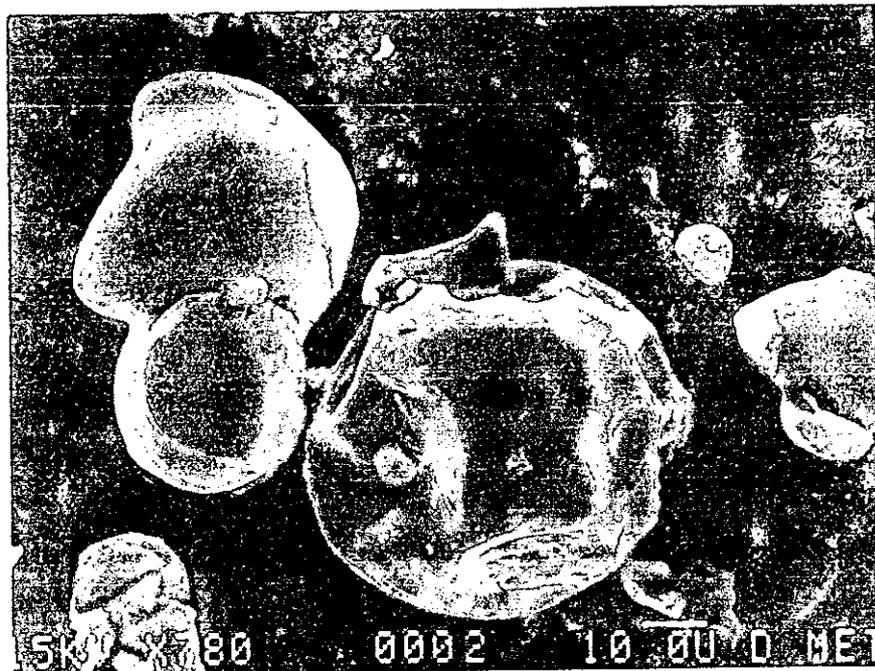
GA17-GM66-MD17 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa



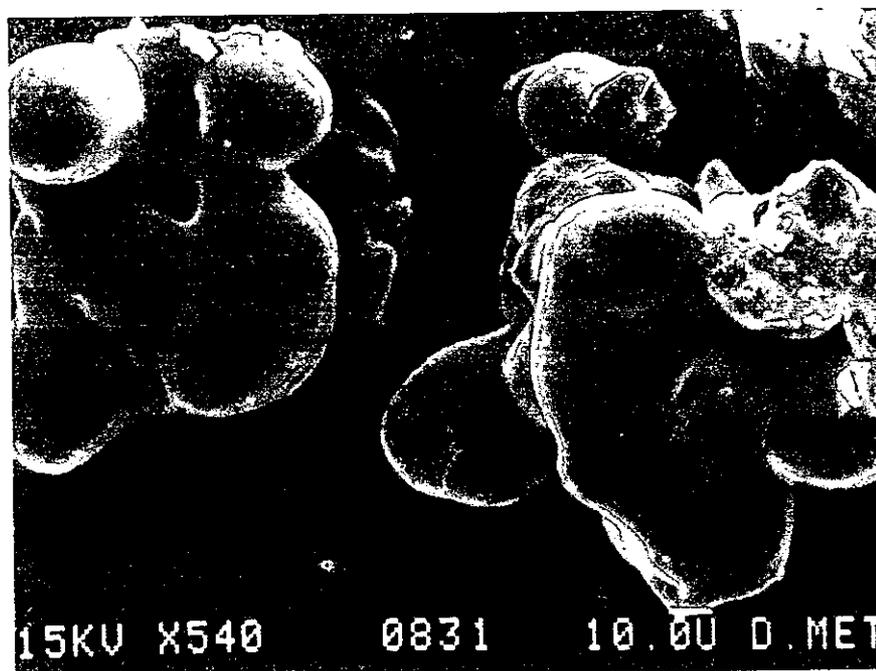
GA17-GM17-MD66 pH 4, rel 2:1
74% humedad relativa



GA17-GM17-MD66 pH 4, rel 3:1
74% humedad relativa



GA17-GM17-MD66 pH 8, rel 2:1
74% humedad relativa



GA17-GM17-MD66 pH 8, rel 3:1
74% humedad relativa