

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS**  
**ALIMENTARIAS**



**MICROENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Verbena officinalis* L.**  
**(Verbena) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN Y LA EFICIENCIA BIOACTIVA EN**  
**LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL *in vitro*.**

**Tesis**

Para optar el título de:

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Presentado por:

**VILLANUEVA HARO SERGIO ROMARIO**

Tingo María-Perú

2025



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
Tingo María  
**FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
Carretera Central Km. 1.21. Apartado Postal 156 Tingo María  
E.mail; [fiia@unas.edu.pe](mailto:fiia@unas.edu.pe)

“Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana”

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 002-2025**

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 30 de abril del 2025, a horas 9:00 a.m., en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, para calificar la tesis presentada por el Bach. **SERGIO ROMARIO VILLANUEVA HARO**, titulada:

**“MICROENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Verbena officinalis* L. (Verbena) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN Y LA EFICIENCIA BIOACTIVA EN LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL *in vitro*”**

Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **aprobado** con el calificativo de **muy bueno**; en consecuencia, el sustentante, queda **APTO** para obtener el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias**, de conformidad con el artículo 45° numeral 45.2, de la Ley Universitaria 30220; los artículos 132 inciso “k” y 135 inciso “f” del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 30 de abril del 2025

  
Dr. Roberto Davila Trujillo  
Presidente

  
Dr. Williams Vicente Roldán Carbajal  
Miembro

  
Dra. Yolanda Jesús Ramírez Trujillo  
Miembro

  
Dr. Jaime Eduardo Basilio Atencio  
Asesor

  
M.Sc. Melchor Soria Iturri  
Asesor



“Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana”

## CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 155 - 2025 - CS-RIDUNAS

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

### CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Programa de Estudio:

Ingeniería en Industrias Alimentarias

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
MICROENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE Verbena officinalis L. (Verbena) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN Y LA EFICIENCIA BIOACTIVA EN LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL in vitro	VILLANUEVA HARO SERGIO ROMARIO	<b>15 %</b> <b>Quince</b>

Tingo María, 27 de mayo de 2025

  
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN  
**Dr. Tomás Menacho Mallqui**  
JEFE

C.C. Archivo

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN  
OFICINA DE INVESTIGACIÓN**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

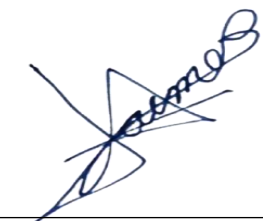
**REGISTRO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO UNIVERSITARIO, INVESTIGACIÓN  
DOCENTE Y TESISISTA**

(Resol. N° 295-2023-CU-R-UNAS)

**I. Datos Generales de Pregrado**

**Universidad** : Universidad Nacional Agraria de la Selva.  
**Facultad** : Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias  
**Título de tesis** : MICROENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Verbena officinalis* L. (Verbena) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN Y LA EFICIENCIA BIOACTIVA EN LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL *in vitro*.  
**Autor** : Villanueva Haro, Sergio Romario  
**Asesores de Tesis** : Dr. Basilio Atencio Jaime Eduardo  
M.Sc. Soria Iturri Melchor  
**Escuela Profesional** : Ingeniería en Industrias Alimentarias.  
**Área de investigación** : Ciencias de Alimentos  
**Grupo de investigación** : Ingeniería de alimentos - IA  
**Línea de investigación** : Ingeniería de alimentos  
**Lugar de ejecución** : Universidad Nacional Agraria de la Selva  
**Duración** : Inicio : Julio 2023  
Término : Abril 2025  
**Financiamiento** : FEDU : No.  
Prociencia- : S/. 5,541.80  
Concytec

**Tingo María, Perú, mayo 2025.**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Basilio Atencio  
Jaime Eduardo  
Asesor

  
\_\_\_\_\_  
M.Sc. Soria Iturri  
Melchor  
Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Villanueva Haro  
Sergio Romario  
Tesisista

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS**  
**ALIMENTARIAS**



**MICROENCAPSULACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Verbena officinalis* L.**  
**(Verbena) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN Y LA EFICIENCIA BIOACTIVA EN**  
**LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL *in vitro*.**

- Autor** : Villanueva Haro Sergio Romario
- Asesor(es)** : Dr. Basilio Atencio Jaime Eduardo  
M.Sc. Soria Iturri Melchor
- Área de investigación** : Ciencias de Alimentos
- Grupo de investigación** : Ingeniería de Alimentos-IA
- Línea de investigación** : Ingeniería de Alimentos
- Lugar de ejecución** : Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Duración** : 18 meses
- Financiamiento** : Prociencia-Concytec (CONTRATO N° PE501082418-2023-PROCIENCIA)

**Tingo María – Perú. 2025**

## **DEDICATORIA**

### **A Dios**

Con infinita gratitud por la vida, la sabiduría para superar cada desafío y la fuerza inquebrantable en mi camino profesional y personal. Gracias por ser mi guía constante en la senda hacia la ingeniería.

### **A mi padre y madre**

A mi querida madre Haro Usquiano Lucia, por cada lágrima de emoción al verme triunfar, por su apoyo emocional incondicional que ha sido mi refugio, por su cariño infinito que ha impulsado cada uno de mis pasos, y por su incansable respaldo económico que hizo posible este sueño.

A mi admirado padre Villanueva Haro Severo, Por el inmenso orgullo que transmites con cada palabra, el cual ha sido mi constante inspiración., por su invaluable sustento económico que siempre estuvo presente, y por ese inmenso cariño que, junto al de mamá, ha sido el motor de mi vida.

### **A mis hermanos y hermanas**

A mi hermana Mary por tu valioso apoyo económico que me tendió la mano en momentos clave y a mi hermanito Yordy, por ser esa luz y esa inspiración constante en mi vida. A mis hermanos Rolan, Deisy y Flor, por su constante ánimo, compañía y el cariño que ha enriquecido mi camino.

## AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por permitirme la invaluable oportunidad de realizarme como profesional.
- A la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias por ser el epicentro de mi formación y a todos sus docentes por compartir sus valiosos conocimientos, fundamentales en mi desarrollo profesional.
- A mis padres, entre lágrimas de profunda gratitud, este logro es vuestro. Gracias por su amor incondicional, por el apoyo emocional y económico que hicieron posible cada paso y por el orgullo que siento en cada una de sus miradas.
- A mi hermana Mary, con lágrimas de gratitud, agradezco tu invaluable apoyo económico y tu inmenso cariño que siempre me ha impulsado. Tu admiración es mi inspiración y pieza clave de este logro.
- A mi asesor Dr. Soria Iturri Melchor, mi más profundo agradecimiento por compartir su vasto conocimiento sin reservas durante la ejecución de esta tesis. Su infinita amistad, invaluable consideración en un proyecto ganador y financiado, y su inmensa paciencia, fueron pilares esenciales. Su guía fue crucial y por ello siento una profunda admiración.
- A mi asesor Dr. Basilio Atencio Jaime Eduardo, mi sincero reconocimiento por su valiosa guía y su genialidad en los conocimientos, los cuales me compartió sin reservas. Su apoyo fue fundamental, facilitándome personalmente la ejecución de esta tesis.
- A mis amigos Neytan, Max y Percy, gracias por su incondicional apoyo emocional y por la admiración mutua que siempre nos ha impulsado.
- A mis compañeros gracias por su invaluable compañerismo y por la admiración que me han brindado a lo largo de este camino.
- A mi pareja gracias por tu incondicional apoyo emocional, su paciencia y por ser mi pilar constante, su valiosa colaboración en la ejecución de este proyecto fue fundamental y me impulsó a cada paso.
- Al Laboratorio Central de investigación (LCI), por su apoyo en los análisis respectivos.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Antecedentes .....	3
2.2. Aspectos generales de la verbena .....	4
2.2.1. Características de la planta.....	4
2.2.2. Clasificación taxonómica.....	5
2.2.3. Importancia de los compuestos de la verbena.....	5
2.3. Extracción asistida por ultrasonido.....	7
2.4. Microencapsulación .....	7
2.4.1. Microencapsulación mediante secado por aspersion.....	8
2.4.2. Ventajas de la microencapsulación por atomización.....	9
2.5. Compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante .....	10
2.5.1. Compuestos fenólicos .....	10
2.5.2. Flavonoides .....	10
2.5.3. Capacidad antioxidante.....	10
2.6. Perfil de enlaces químicos OH .....	11
2.7. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	11
2.8. Análisis de microestructura de microcápsulas .....	12
2.9. Vida útil de microcápsulas .....	12
2.10. Digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> .....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1. Lugar de ejecución.....	14
3.2. Materia prima .....	14
3.3. Equipos, materiales y reactivos .....	14
3.3.1. Equipos .....	14
3.3.2. Materiales.....	14

3.3.3. Reactivos .....	15
3.4. Métodos de análisis.....	15
3.5. Metodología experimental .....	15
3.5.1. Determinación de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena.....	15
3.5.2. Determinación de la eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos y flavonoides del extracto de verbena .....	16
3.5.3. Identificación del grupo funcional hidroxilo (OH) en las microcápsulas....	17
3.5.4. Análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	17
3.5.5. Análisis de la microestructura de las microcápsulas .....	18
3.5.6. Evaluación de la bioactividad de las microcápsulas.....	18
3.5.7. Determinación de la vida útil de las microcápsulas .....	22
3.5.8. Simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> de las microcápsulas...	23
3.6. Diseño experimental .....	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
4.1. Compuestos bioactivos en el extracto de verbena.....	27
4.2. Eficiencia de la microencapsulación de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena .....	27
4.3. Grupo funcional hidroxilo (OH) en las microcápsulas .....	33
4.4. Temperatura de transición vítrea (Tg) en las microcápsulas.....	34
4.5. Morfología, tamaño promedio y distribución de tamaño de las microcápsulas....	37
4.6. Vida útil de las microcápsulas en función de la bioactividad .....	39
4.7. Digestión simulada gastrointestinal <i>in vitro</i> de las microcápsulas.....	50
V. CONCLUSIONES.....	53
VI. PROPUESTAS A FUTURO .....	54
VII. REFERENCIAS .....	55
ANEXOS.....	68

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena ....	27
2. Rendimiento de proceso y eficiencia de la microencapsulación de los compuestos fenólicos y flavonoides.....	29
3. Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para compuestos fenólicos.....	40
4. Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para flavonoides totales.....	43
5. Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para DPPH.....	46
6. Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para ABTS.....	48
7. Eficiencia promedia de protección de la bioactividad durante la simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> .....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Curva estándar de ácido gálico para determinar compuestos fenólicos .....	19
2. Curva estándar de catequina para determinar flavonoides totales.....	20
3. Curva estándar de trolox para determinar la capacidad antioxidante por la captura del radical libre DPPH.....	21
4. Curva estándar de trolox para determinar la capacidad antioxidante por la captura del radical libre ABTS .....	22
5. Diseño experimental de microencapsulación de extracto de verbena mediante secado por aspersión. ....	25
6. Diseño experimental para determinar la vida útil de las microcápsulas .....	26
7. Tratamientos del rendimiento del proceso de microencapsulación .....	29
8. Eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos .....	31
9. Eficiencia de microencapsulación de flavonoides.....	33
10. Espectro por FTIR de las microcápsulas del extracto acuoso de verbena .....	34
11. Calorimetría diferencia de barrido (DSC) de las microcápsulas .....	36
12. Micrografías de las microcápsulas de verbena.....	37
13. Curva de distribución de tamaño de las microcápsulas .....	38
14. Modelo de Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de compuestos fenólicos.....	41
15. Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de flavonoides totales .....	44
16. Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de DPPH .....	47
17. Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de ABTS .....	49

## RESUMEN

La *Verbena officinalis* L. se utiliza como medicina natural por su contenido de compuestos bioactivos, pero también contiene terpenoides que le dan sabor amargo que provoca su rechazo, por lo que se genera la necesidad de una tecnología para microencapsular los compuestos bioactivos y enmascarar el sabor amargo. En la investigación la extracción se realizó mediante ondas acústicas con frecuencia de 24 kHz por 38 min, se obtuvo  $1453,39 \pm 31,98$  mg EAG/100 g en compuestos fenólicos y  $442,0 \pm 1,34$  mg EC/100 g en flavonoides. Se micro encapsuló el extracto mediante secado por aspersion resultando como mejor tratamiento: temperatura de bulbo seco del aire, 140 °C con 5 % de maltodextrina DE10, con rendimiento de 63 % y eficiencia en microencapsulación: 71,98 % en compuestos fenólicos y 72,02 % en flavonoides. Las microcápsulas mostraron un pico en  $3264 \text{ cm}^{-1}$  siendo la vibración del enlace químico OH de los compuestos fenólicos, el Tg promedio de las microcápsulas fue de  $77,85 \pm 0,5$  °C y un tamaño medio de  $7,69 \pm 2,19$  μm, la mayoría con morfología esférica rugosa con hendiduras, los modelos Weibull y Gammariello se ajustan para estimar la vida útil en términos de la bioactividad, con  $R^2$  de 0,992 en compuestos fenólicos. La protección de la bioactividad de las microcápsulas por simulación gastrointestinal *in vitro* fue: 72,38 %, 84,03 %, 60,33 %, 77,86 % para compuestos fenólicos, flavonoides, capacidad antioxidante DPPH y ABTS, respectivamente.

**Palabras claves:** Verbena, Verbenaceae, Extracto vegetal, *Verbena officinalis*, Extractos foliares.

## ABSTRAC

*Verbena officinalis* L. is used as natural medicine due to its content of bioactive compounds, but it also contains terpenoids which give it a bitter flavor that provokes its rejection, thus, the need is generated for a technology to microencapsulate the bioactive compounds and mask the bitter flavor. In the research, the extraction was done using sound waves with a frequency of 24 kHz per 38 min;  $1453.39 \pm 31.98$  mg EAG/100 g of phenol compounds and  $442.0 \pm 1.34$  mg EC/100 g of flavonoids were obtained. The extract was microencapsulated by spray drying, with the best treatment being: air dried bulb temperature, 140 °C with 5 % maltodextrin DE10, with a yield of 63 % and a microencapsulation efficiency of: 71.98 % for phenol compounds and 72.02 % for flavonoids. The microcapsules showed a peak at  $3264 \text{ cm}^{-1}$  which was the vibration of the OH chemical bond of the phenol compounds, the average Tg of the microcapsules was  $77.85 \pm 0.5$  °C with an average size of  $7.69 \pm 2.19$  μm; the majority had a rough spherical morphology with clefts; the Weibull and Gammariello models were adjusted to estimate the shelf life in terms of the bioactivity, with an R<sup>2</sup> of 0.992 in phenol compounds. The protection of the bioactivity of the microcapsules through gastrointestinal simulation in vitro was: 72.38 %, 84.03 %, 60.33 %, [and] 77.86 % for the phenol compounds, flavonoids and DPPH and ABTS antioxidant capacities, respectively.

**Keywords:** vervain, Verbenaceae, vegetable extract, *Verbena officinalis*, foliar extracts

## I. INTRODUCCIÓN

Las hojas de *Verbena officinalis* L.(verbena) son una fuente de medicina natural en las zonas rurales de nuestro país y su aplicación está basada en el empirismo. Estudios sobre los extractos de sus hojas demostraron su poder bioactivo, como, antiinflamatorio, antibacterial, neuroprotector, analgésico, antifúngico, antioxidante, benéfico para la prostatitis crónica y dolores de estómago, estas propiedades funcionales se deben al amplio rango de compuestos fitoquímicos que presenta, tales como, aceites esenciales (citral, geraniol, limoneno, verbenona), glucósidos iridiodos (verbenalina, verbenen e histatósido), glucósidos del ácido cafeico,  $\beta$ -sitosterol, ácido ursólico, apigenina, luteolina y compuestos fenólicos, también se ha consolidado que los principales componentes de la *V. officinalis* son iridoides, fenilpropanoides, flavonoides, luteolina y terpenoides, estos últimos le brindan el sabor amargo.

Actualmente la bioactividad de esta planta no es aprovechada adecuadamente por la falta de difusión científica por lo que es utilizada únicamente por los pobladores de las zonas rurales, apenas al uso *in natura*, careciendo de una tecnología de conservación bioactiva. Las hojas contienen terpenoides, lo que origina organolépticamente elevada intensidad de amargor, induciendo al rechazo de su consumo como medicamento, careciendo de una tecnología que encapsule el compuesto bioactivo y enmascare el sabor amargo. Existen pocos estudios sobre la cuantificación bioactiva de la *V. officinalis* y estos se realizaron extrayendo los compuestos bioactivos con solventes tóxicos para el ser humano (mezcla agua/etanol, metanol/etanol, acetona) que evidentemente tienen mayor poder de extracción que el agua, pero carecen de aplicabilidad. Cabe resaltar que los pobladores únicamente consumen la infusión de hojas de *V. officinalis* realizados con agua como solvente, requiriéndose de una tecnología que incremente la efectividad de extracción y además es necesario conservarlos adecuadamente.

Una de las tecnologías de conservación de los compuestos bioactivos es la microencapsulación, esta tecnología encapsula el principio activo y enmascara el sabor, olor y otros atributos sensoriales de los alimentos, que frecuentemente causan rechazo a su consumo, no aprovechándose las bondades medicinales y/o nutricionales del alimento. Para la obtención de microcápsulas son utilizadas técnicas físicas como el secado por aspersion siendo este ventajoso porque forma las microcápsulas a altas temperaturas, pero en tiempos muy cortos (1-5 s) impidiendo la degradación de los compuestos bioactivos que, en su mayoría son termosensibles. La extracción de la bioactividad de la verbena con ondas acústicas es importante porque se evita el uso de solventes tóxicos, y asimismo la microencapsulación conserva los compuestos bioactivos después de extraerlos. La evaluación de estos compuestos en las microcápsulas, identificación de enlaces OH, cálculo de la temperatura de transición

vítrea (Tg), determinación del tamaño medio y distribución de partículas, la predicción de vida útil y simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* brinda información sobre la eficiencia de microencapsulación, la temperatura para almacenar, la cinética de degradación en el tiempo y cómo se protegen en el sistema gastrointestinal, en este sentido se plantearon los siguientes objetivos:

**Objetivo general:** Microencapsular el extracto acuoso de *V. Officinalis* L. (Verbena) mediante secado por aspersion y evaluar la eficiencia bioactiva en la digestión gastrointestinal *in vitro*.

**Objetivos específicos**

- Determinar el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales del extracto acuoso de verbena extraído por ondas acústicas.
- Caracterizar las microcápsulas obtenidas en términos de eficiencia de microencapsulación mediante el contenido de compuestos bioactivos y diseñar el proceso de microencapsulación del extracto acuoso de verbena utilizando el secado por aspersion seleccionando el tipo y proporción de agente encapsulante (maltodextrina DE10 y goma arábica).
- Caracterizar los grupos funcionales presentes en las microcápsulas mediante espectrofotometría por transformada de Fourier (FTIR) identificando el grupo funcional hidroxilo (OH).
- Determinar la temperatura de transición vítrea (Tg) de las microcápsulas mediante DSC para establecer su estabilidad térmica y comportamiento en el almacenamiento.
- Evaluar el tamaño promedio, la distribución de tamaños y la morfología superficial de las microcápsulas mediante MEB para analizar la calidad del proceso de microencapsulación.
- Estimar la vida útil de las microcápsulas de verbena en función a los compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante.
- Simular la digestión gastrointestinal *in vitro* de las microcápsulas abordando la fase salivaria, gástrica e intestinal.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

En la literatura científica existen estudios sobre la bioactividad de la *V. officinalis*, Calvo (2006) en su estudio sobre la actividad antiinflamatoria y analgésica del preparado tópico de *V. officinalis* encontró que la actividad fue similar al gel de piroxicam utilizado como control positivo. Los extractos fueron obtenidos con metanol y aplicadas en ratas albinas wistar en bajas concentraciones, careciendo de aplicación en humanos, porque el metanol es perjudicial para la salud.

Casanova et al. (2008) estudiaron la actividad antioxidante y antifúngica de hojas de *V. officinalis*, la capacidad antioxidante frente al radical libre DPPH y el efecto antifúngico utilizando como solvente cloroformo, acetato de etilo y metanol al 50%. Los resultados sugirieron que los compuestos fenólicos extraídos con metanol al 50% podrían considerarse fuentes excelentes y fácilmente disponibles de compuestos antifúngicos y antioxidantes naturales, sin embargo, el metanol no es aplicable en humanos.

Pang et al. (2014) extrajeron y microencapsularon por aspersion los polifenoles obtenidos de hojas de *Orthosiphon stamineus* (té de Java), la extracción fue con disolvente acuoso que permitió la extracción simultánea de compuestos fenólicos hidrofílicos y lipofílicos. Una mayor concentración de sólidos conduce a una mayor viscosidad de la solución, mayor tamaño de partículas, menor contenido de humedad y superficie menos rugosa, lo que puede mejorar la fluidez de las partículas. Los resultados sugieren que la eupatorina y el ácido rosmarínico son más susceptibles a la degradación térmica que la sinensetina durante el secado por aspersion. También se encontró que la formulación de proteína de suero de leche y maltodextrina a una proporción de 1:9 era más eficaz, con una retención total de flavonoides del 86,7 % en comparación con otras formulaciones.

Michel et al. (2023), con el objetivo de optimizaron las condiciones de microencapsulación de extractos de hojas de *Azadirachta indica* A. (lila india.) para el biocontrol de *Tenebrio molitor* (gusano de harina), para la encapsulación de los extractos utilizaron el método de coacervación compleja, donde los factores independientes considerados fueron el pH (3, 6 y 9), la pectina (4, 6 y 8 % p/v) y el aislado de proteína de suero (WPI) (0,50, 0,75 y 1,00 % p/v), además utilizaron como matriz experimental el arreglo ortogonal Taguchi L9 (3<sup>3</sup>). La variable respuesta fue la mortalidad de *T. molitor* a las 48 h. Los nueve tratamientos se aplicaron por inmersión de los insectos durante 10 s. El análisis estadístico reveló que el factor más influyente en la microencapsulación fue el pH (73% de influencia), seguido de la pectina y WPI (15% y 7% de influencia, respectivamente). Las condiciones óptimas de

microencapsulación fueron pH = 3, pectina al 6 % p/v y WPI al 1 % p/v. Las microcápsulas tenían un diámetro que oscilaba entre 1 y 5 µm. La microencapsulación por coacervación compleja es una alternativa para la conservación de compuestos insecticidas extraídos de las hojas de neem.

La investigación de Iturri et al. (2021) indica que los compuestos bioactivos de la pulpa de *Eugenia stipitata* (Arazá) tienen propiedades antimutagénicas, anticancerígenas y antigenotóxicas, pero su uso es limitado debido a su alta perecibilidad, por ello planteó el objetivo de preservar la bioactividad mediante el uso de microencapsulación por secado por atomización, uso de DSC para determinar la mejor proporción de material de pared (maltodextrina o goma arábiga) y temperatura de secado (100 o 120 °C), lo que exhibió que las micropartículas con maltodextrina (1:9)-100 °C tuvieron la mejor conservación de bioactividad después de digestión gastrointestinal *in vitro*, conservando el 61% de polifenoles totales, y el 101%, 85% y 31% de capacidad antioxidante según los métodos de ensayo ABTS, FRAP y DPPH respectivamente, estas micropartículas tenían una morfología esférica, con buena estabilidad térmica y poder almacenarse a temperatura de 20 a 40 °C sin volverse pegajosas, concluyeron que la microencapsulación por secado por atomización junto con DSC es importante para preservar una alta concentración de compuestos bioactivos.

Silva et al. (2023) microencapsularon *Camellia sinensis* (té verde) y cuantificaron polifenoles y capacidad antioxidante. Younesi et al. (2023) determinaron compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante de las microcápsulas del extracto de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica). Jovanović et al. (2021) encapsularon el extracto de raíz de *Gentiana asclepiadea* L (genciana de las asclepias), cuantificando fenoles totales. Mehran et al. (2020) microencapsularon Pétalo de *Echium amoenum* (hierba de la víbora persa) determinando posteriormente antocianinas y la capacidad antioxidante. Silva et al. (2019) microencapsularon el extracto de semilla de *Paullinia cupana* (guaraná) luego cuantificaron el contenido fenólico, catequinas y epicatequinas.

## **2.2. Aspectos generales de la verbena**

### **2.2.1. Características de la planta**

La planta es perenne, con tallos de 30-60 cm, erectos, de sección cuadrangular y acostillados longitudinalmente, escábridos en los ángulos y laxamente ramificadas, las hojas, opuestas, son más o menos rómbicas, las inferiores de 4-6 × 2-4 cm, peciolados, profundamente incisas, de liradas a 1-2 pinnatífidas, las inferiores más pequeñas, sésiles y de subenteras a enteras, las flores se disponen en espigas bracteadas, largamente

pedúnculadas, de 10-25 cm, solitarias o en panículas muy laxas, las brácteas son ovado acuminadas, ciliadas, el cáliz es tubular y está formado por cuatro sépalos soldados en su mayor parte, y la corola, hipocrateriforme, de color rosa pálido, el doble de larga que el cáliz, con forma de embudo que se abre por cinco lóbulos redondeados que forman dos pequeños labios, el androceo consta de cuatro estambres con anteras verdosas y carentes de filamentos, incluso, y el gineceo tiene un ovario con cuatro cavidades que emite un corto estilo, el fruto es una nuez que se divide en cuatro núculas de 1,5 - 2 mm, de color pardo rojizo y con 4 o 5 costillas longitudinales en el dorso (Menéndez, 2023).

La *V. officinalis* pertenece a la familia de las Verbenaceae consisten en hermafroditas, árboles aromáticos, arbustos, lianas o hierbas, los tallos suelen tener cuatro lados, al menos cuando son jóvenes, los nudos a menudo están surcados y las espinas están presentes en algunos taxones, las hojas suelen ser simples, aserradas, opuestas y exestipuladas, la inflorescencia es una cima, panícula, racimo o cabeza, en algunos taxones con un involucre de brácteas coloreadas, además las flores son hipóginas, generalmente bisexuales (Simpson, 2010).

### 2.2.2. Clasificación taxonómica

Schoch (2020) menciona que se encuentra clasificado de la siguiente forma:

Reino : Plantae  
 División : Magnoliophyta  
 Clase : Magnoliopsida  
 Orden : Lamiales  
 Familia : Verbenaceae  
 Género : Verbena  
 Especie : *Verbena officinalis* L.

### 2.2.3. Importancia de los compuestos de la verbena

La *V. officinalis* tiene un efecto anti-inflamatorio satisfactorio contra la infección viral *in vivo* y regula las funciones de activación, maduración y destrucción de las células asesinas naturales, es por ello que la verbenalina de *V. officinalis* mejora la eficacia de eliminación de asesinas naturales, lo que sugiere su potencial como una terapia prometedora para combatir la infección viral (Dai et al., 2023). De manera integral y sistemática las características de los ingredientes clave en *V. officinalis* (quercetina, luteolina y kaempferol), previenen la aparición y el desarrollo de la aterosclerosis (Chen et al., 2023). Además, la *V.*

*officinalis* L. es un medicamento utilizado en todo el mundo con fines antidepresivos y anticonvulsivos, así como para tratar trastornos inflamatorios, quemaduras en la piel, abrasiones y enfermedades gástricas (Rodrigues et al., 2022).

Los extractos de *V. officinalis* son agentes terapéuticos para el tratamiento potencial de diferentes enfermedades, incluidos los cánceres colorrectales y de hígado (Nisar et al., 2022a). *V. officinalis* posee múltiples potenciales terapéuticos (Nisar et al., 2022b). Rehecho et al. (2011) estudiaron la composición química, contenido mineral y actividad antioxidante de *V. officinalis*, el estudio fue realizado utilizando dos extractos, acuoso (solo agua) e hidroetanólico, el análisis por HPLC-DAD y LC-MS permitió la detección e identificación de tres iridoideas, quince flavonoides y cuatro derivados del ácido fenólico (fenoles). Ambos extractos mostraron una actividad antioxidante significativa utilizando tres sistemas modelo *in vitro* (DPPH, ABTS y radical superóxido), los resultados tienen correlación con el contenido total de fenoles, flavonoides totales y el contenido de minerales (Mg, Ca, Na, K, P, Fe, Zn, Cu, Mn) presentes en ambos extractos, estos resultados son atractivos para diversos fines comerciales como complementos alimenticios y productos de medicina natural.

Sumaira et al. (2018) utilizaron extractos de hojas de *V. officinalis* y *Verbena tenuisecta*, el análisis fitoquímico de los extractos vegetales reveló que *V. officinalis* mostró un mayor contenido total de fenoles y flavonoides (22,12 y 6,38 mg/g) en comparación con *V. tenuisecta* (12,18 y 2,7 mg/g). Las ZnO NPs se caracterizaron mediante espectroscopia ultravioleta-visible, infrarrojo por transformada de Fourier, microscopio electrónico de barrido. Fue examinado el biopotencial de las ZnO NPs a través de su potencial leishmanicida contra *Leishmania tropica* (conocida en Perú como uta). Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) mostraron una potente actividad leishmanicida, siendo 250 µg/ml la concentración más potente. Las ZnO NPs mediadas por *V. officinalis* mostraron una actividad leishmanicida más potente en comparación con las mediadas por *V. tenuisecta* debido a su mayor concentración de polifenoles totales dopados en su superficie. Estos resultados son una alternativa para el desarrollo de nuevos compuestos para el tratamiento de la leishmaniasis. Actualmente la *V. officinalis* está teniendo resultados alentadores sobre tratamiento de enfermedades crónicas, por ejemplo. Dobrucka et al. (2021) estudiaron la actividad antileucémica de nanopartículas de Au/CuO/ZnO sintetizadas con extracto de *V. officinalis*. La influencia de las nanopartículas de Au/CuO/ZnO en la viabilidad celular se evaluó *in vitro*. El tipo de muerte y la efectividad de la eliminación celular dependieron tanto de la concentración del complejo como de la duración del cultivo. Dentro de las primeras 24 h, más del 80% de las células cultivadas en presencia de nanopartículas de Au/CuO/ZnO a la concentración de 10 µmol exhibieron signos de apoptosis

tardía (disminución de producción de energía celular que conlleva a una muerte tardía por hinchamiento). Y alrededor del 60% de las células cultivadas en presencia de nanopartículas de Au/CuO/ZnO a la concentración de 100  $\mu\text{mol}$  sufrieron necrosis (muerte celular por ruptura de la membrana citoplasmática y la consecuente salida de material intracelular). Los estudios realizados demostraron que las nanopartículas trimetálicas de Au/CuO/ZnO sintetizadas con extracto de *V. officinalis* pueden ayudar a desarrollar soluciones efectivas para combatir la leucemia. Barbălată-Mândru et al. (2022) estudiaron la obtención de biomateriales (bioplásticos) con propiedades antibacterianas mediante la combinación de alcohol polivinílico con los extractos obtenidos de varias plantas de Rumania, en el cual seleccionaron extractos herbales de flores recién recolectadas de la planta de *Lavandula angustifolia* (lavanda) y hojas de las plantas de *Mentha piperita* (menta), de *Cannabis sativa L.* (cáñamo), de *Verbena officinalis L.* (verbena) y de *Salvia officinalis F.* (salvia) y los resultados mostraron que los extractos vegetales confieren efectos antibacterianos significativos a los plásticos frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y no son tóxicos frente a las células fibroblásticas del conejo.

### 2.3. Extracción asistida por ultrasonido

La extracción por ultrasonido que consiste en la interacción de las ondas acústicas con el tejido vegetal para alterar sus propiedades físicas y químicas, mediante vibración mecánica realizando ciclos de expansión y compresión lo que conlleva a que el tejido vegetal se altere y esto provoca una mejora en la transferencia de masa (Dent et al., 2015)

Uno de los métodos usados para la extracción de compuestos bioactivos en vegetales es la extracción por ultrasonido, que no es perjudicial para el medio ambiente y produce un alto rendimiento con menor consumo de solvente y tiempo, tiene la propiedad de conservar los compuestos sensibles a la temperatura, este método se ha combinado con otras tecnologías influenciando así en los procesos de la industria alimentaria mejorando la estabilidad, calidad y seguridad en los alimentos (Yusoff et al., 2022).

En la actualidad, se disponen de varios métodos de extracción para obtener compuestos bioactivos siendo el más utilizado la extracción asistida por ultrasonido (Manousi et al., 2019; Bakshi et al., 2022).

### 2.4. Microencapsulación

La microencapsulación permite proteger moléculas o sustancias activas mediante la producción de microcápsulas que contienen agentes activos como material que se empaqueta

dentro de un compuesto inmiscible sólido o líquido, también llamado material de pared (encapsulante) para prevenir de manera eficiente la contaminación por microorganismos o agentes que deterioran los alimentos. Tiene potencial aplicación en sistemas estables, así como en los antibacterianos naturales para su posterior uso en las matrices de los alimentos y su eficiencia se encuentra relacionado con la velocidad de liberación y las propiedades biológicas naturales que son atrapados (Eghbal et al., 2022). En la encapsulación por liofilización se usa como material pared los carbohidratos de cadena alta y media como almidón, maltodextrinas y las ciclodextrinas debido a la capacidad para formar matrices amorfas y el modelo para determinar el impacto de cada factor del proceso de optimización es la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM) (González-Ortega et al., 2020). El mecanismo de la protección en la microencapsulación depende de la composición química, polaridad, solubilidad, propiedades físicas y funcionales de cada matriz, mejorando aspectos como: i) la vida útil del analito al evitar la oxidación, como en el caso de los aceites esenciales o vitaminas liposolubles; ii) prolongando la estabilidad y actividad funcional de compuestos termolábiles o altamente reactivos, como los antioxidantes; iii) facilitando la incorporación de compuestos insolubles, debido a la interacción que se facilita entre el material encapsulante y el medio o solvente en el cual se va a dispersar; iv) conservando los perfiles de aroma y sabor por un tiempo más prolongado; y v) la biodisponibilidad de nutrientes al facilitar la liberación controlada en los sitios requeridos de interacción (De Souza et al., 2015).

#### **2.4.1. Microencapsulación mediante secado por aspersión**

El método se basa en atomizar la solución que va a ser secada en forma de gotas muy finas en el seno de una corriente de gas caliente que generalmente es aire caliente que alcanza una temperatura que oscila entre 100 y 200 °C, posteriormente se forman partículas de geometría esférica, con aspecto de esferillas huecas con un diámetro que puede estar entre 20 µm y 200 µm (López & Orestes, 2010).

Los compuestos bioactivos pueden ser conservados mediante un proceso de encapsulación que los encierra en un material de revestimiento, y para ello el proceso de secado por aspersión se ha empleado ampliamente por su breve duración y sus condiciones de funcionamiento son controlables. Este método representa una técnica convencional que es relativamente sencilla, eficaz, con una alta capacidad y rentable, pues transforma el extracto líquido en polvo mediante una corriente de aire caliente. El polvo resultante es adecuado para su uso posterior en la industria farmacéutica o alimentaria, o puede utilizarse tal como se obtiene debido a sus propiedades instantáneas. Los agentes encapsulantes habitualmente empleados en

el proceso de secado por aspersión son biopolímeros naturales, como polisacáridos (almidón, maltodextrina, quitosano, goma arábica, pectina, ciclodextrina) y proteínas (leche desnatada, proteína de suero, aislado de proteína de soja) (Jovanović et al., 2021).

Según Esquivel-González et al. (2015), las etapas del secado por aspersión consisten en:

- **Atomización**

La atomización líquida en pequeñas gotas se puede llevar a cabo por presión o energía centrífuga, los atomizadores usados incluyen atomizador neumático, boquilla de presión y configuraciones de discos giratorios.

- **Contacto gota y aire caliente**

Este contacto toma lugar durante la atomización en la cámara de secado y se inicia la etapa de secado. De acuerdo al sitio o lugar donde se encuentra localizado el atomizador comparado con el aspersor de aire caliente, se puede distinguir en sentido de la corriente, ya sea paralela o en contracorriente.

- **Evaporación de agua**

Al momento en que ocurre el contacto de las gotas de líquido con el aire caliente, se establece el balance térmico y el equilibrio de presión parcial de vapor entre las fases líquido y gas. Por lo tanto, la transferencia de calor se lleva a cabo del aire hacia el producto como resultado de la diferencia de temperatura, mientras que la transferencia de masa del agua se lleva a cabo en sentido opuesto debido a la diferencia de la presión de vapor.

- **Separación del producto seco y aire húmedo**

Esta separación se hace a través de un ciclón colocado fuera de la cámara de secado, lo cual reduce las pérdidas del producto a la atmósfera: las partículas de mayor densidad son recuperadas en la base de la cámara de secado, mientras que las finas pasan a través del ciclón para ser separadas del aire húmedo.

#### **2.4.2. Ventajas de la microencapsulación por atomización**

Una de las ventajas que tiene la microencapsulación es la manipulación y el control de la liberación y solubilización de sustancias activas, son aplicados para el desarrollo de la ciencia y procesamiento de un conjunto de alimentos (Calderón-Olive & Ponce-Alquicira, 2022).

Según Arpagaus et al. (2018) las ventajas de la microencapsulación por atomización consisten en lo siguiente:

Control del tamaño y la morfología de las partículas (forma morfa/cristalina, porosidad).

Proceso de un solo paso para convertir directamente varios alimentos líquidos en polvo seco y su simplicidad de operación.

Bajos costos operativos, tecnología energéticamente eficiente y proceso rápido.

Diseño de ciclo abierto y cerrado para secado por aspersion de disolventes acuosos y orgánicos.

Procesamiento de sustancias sensibles al calor con bajo riesgo de degradación.

Diseño de partículas con propiedades de liberación controlada de fármacos.

Alta eficiencia de encapsulación y vida útil prolongada.

## **2.5. Compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante**

### **2.5.1. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se pueden caracterizar como compuestos de origen vegetal que comparten la presencia de un anillo aromático que contiene uno o varios grupos hidroxilo (Machmudah et al., 2017). Estos compuestos se pueden determinar mediante el método de Folin-Ciocalteu (Tuncay et al., 2023).

### **2.5.2. Flavonoides**

Los flavonoides son compuestos fenólicos que poseen dos anillos aromáticos unidos por un enlace de tres carbonos (Hogervorst Cvejić et al., 2017).

### **2.5.3. Capacidad antioxidante**

La propiedad antioxidante debe originarse como una característica intrínseca, resultante de los componentes naturales del material, excluyendo la influencia de antioxidantes agregados o de constituyentes liberados mediante tratamientos químicos o enzimáticos previos (Careche et al., 2008). El antioxidante es una sustancia que, al ser introducida en pequeñas cantidades durante la oxidación natural del aire, tiene la capacidad de retrasar o prevenir la oxidación, también esta definición abarca en el sistema biológico donde a la sustancia que resguarda contra los posibles efectos perjudiciales de procesos o reacciones que induzcan una oxidación excesiva se le considera antioxidante (Cudennec et al., 2012).

Los métodos de evaluación de la capacidad antioxidante analizan la actividad global de los compuestos antioxidantes presentes en un material mediante la consideración de diversas reacciones (Sánchez-Ayora & Pérez-Jiménez, 2023).

Hay métodos para evaluar la capacidad antioxidante total *in vitro* o para cuantificar los radicales libres, estos métodos se centran en la neutralización de radicales libres estables, como el ácido 1,1'-difeníl-2-picrilhidrazilo (DPPH), el ácido 2,2'-azobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) por parte de antioxidantes, y el poder antioxidante reductor férrico (FRAP) (Chatterjee et al., 2005). Qin et al. (2023) realizaron la evaluación de la capacidad antioxidante de los componentes bioactivos del extracto de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) utilizando los métodos de DPPH y ABTS. De la misma forma Avalos et al. (2023) usaron el método de DPPH y FRAP para determinar la capacidad antioxidante de los compuestos bioactivos de los extractos de vainas de *Mucuna pruriens* (Grano de terciopelo) y *Cajanus cajan* (Frijol de palo).

## 2.6. Perfil de enlaces químicos OH

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos y flavonoides guarda una relación directa con la presencia del grupo hidroxilo (OH) en la muestra, además, la ubicación de estos grupos hidroxilo también influye en la capacidad de eliminar radicales libres (Patle et al., 2020). Para determinar los enlaces químicos OH de los componentes bioactivos de un extracto se realiza mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (Tuncay et al., 2023) en su estudio sobre el extracto de *Rhaphiolepis indica* L. (Manzanillo).

## 2.7. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Según Mukhametzyanov et al. (2022), la técnica se fundamenta en la identificación del flujo de calor en relación con el tiempo durante el proceso de calentamiento, utilizando una velocidad de calentamiento generalmente constante, esta velocidad de calentamiento corresponde a la derivada de la temperatura del sistema respecto al tiempo, la cual se transforma en capacidad calorífica aparente en relación con la temperatura. Apostolidis et al. (2023) utilizaron este método para determinar la temperatura de transición vítrea y la capacidad calorífica de aglutinantes asfálticos y la entalpía de estos ligantes, Rodríguez-Cortina y Hernández-Carrión (2023) determinaron las características morfológicas de las microcápsulas de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi).

## 2.8. Análisis de microestructura de microcápsulas

Es un método utilizado para generar imágenes de la superficie de un material con el propósito de identificar su morfología, y tamaño, además, es empleado para obtener información cristalográfica y aclarar la orientación de las partículas en un material (Kepekçi et al., 2021). İlhan Dincer y Temiz (2023) utilizaron el microscopio electrónico de barrido para observar la morfología de las microcápsulas obtenidas del extracto de *Pyracantha coccinea* (espino de fuego), Zhao et al. (2021) utilizaron el mismo método para observar la microestructura de micropartículas de proteína de haba.

## 2.9. Vida útil de microcápsulas

La vida útil se puede determinar mediante un almacenamiento con parámetros controlados. Huang et al. (2021) en su investigación sobre microcápsulas de goma gellan, en un entorno de refrigeración, notaron alteraciones en la estructura, el tono, la estabilidad e incluso la densidad de las microcápsulas individuales.

## 2.10. Digestión gastrointestinal *in vitro*

La actividad antioxidante aumenta la digestión gastrointestinal, los flavonoides de la quinua son inaccesibles y su liberación en el tracto gastrointestinal puede ejercer una fuerte actividad antioxidante contra los radicales libres que son responsables de enfermedades crónicas de la salud (Balakrishnan & Schneider, 2020). Los fenoles se hidrolizan a sus agliconas libres, luego se conjugan mediante metilación, sulfatación o glucuronidación, los flavonoides que se encuentran en las plantas están glicosilados, lo que significa que están relacionados con azúcares como la glucosa, la glucorramnosa, la galactosa, la arabinosa y la ramnosa y la unión de estos azúcares de los flavonoides no es hidrolizada por las enzimas pancreáticas durante la digestión, lo que implica que los flavonoides liberados permanecen glicosilados incluso después del proceso de digestión *in vitro*, haciéndolos más estables en las circunstancias del medio (Ștefănescu et al., 2022). Iturri et al. (2021) estudió la microencapsulación de micropartículas de frutos de *Eugenia stipitata* (arazá) y después de la digestión observaron que se redujo la capacidad para neutralizar radicales libres DPPH, sin embargo, se conservaron los polifenoles totales y las capacidades antioxidantes por FRAP y ABTS, es por ello que la técnica de microencapsulación por atomización es adecuada para la obtención de micropartículas y la conservación de los compuestos bioactivos de los frutos. En la digestión gastrointestinal se vio afectado el contenido de compuestos bioactivos en brotes de col rizada encapsulados y no encapsulados, la encapsulación por atomización redujo la degradación de los fitoquímicos

durante el almacenamiento, y los brotes de col rizada germinados mostraron una menor degradación de luteína (35,6 %, 28,2 %), glucosinolatos (15,4 %, 18,9 %) y compuestos fenólicos (20,3 %, 25,7%), en comparación con los no encapsulados, ya que los encapsulados ejercen la mayor actividad antioxidante celular (94,2 %) y actividad inmunomoduladora al estimular la producción de IL-10 (88,9 %) y la inhibición de COX-2 (84,1 %) y NOx (92,2 %) (Ortega-Hernández et al., 2023).

Pham et al. (2021) estudiaron la liberación de las microcápsulas mediante un modelo de digestión *in vitro*, obteniendo como resultados que la mayor parte del aceite encapsulado (66–80%) se liberó en la etapa intestinal y entre el 5% y el 17% se liberó en la etapa gástrica.

En el proceso de digestión *in vitro* simulado, el contenido de vitamina D3 puro en el jugo gástrico fue de 0,568 µg, mientras que la tasa de liberación de vitamina D3 en la muestra de CMC fue de solo 0,133 µg, logrando así el efecto de liberación sostenida (Zhang et al., 2020).

Wang et al. (2023) simularon el tracto gastrointestinal para microcápsulas de aceite de semilla de *Camellia oleifera* (árbol del aceite de té) obtenidas mediante los métodos de coacervación compleja y secado por aspersion, abordando la fase gástrica e intestinal posterior a ello cuantificando el aceite. Por su parte Fan et al. (2022) en su estudio realizaron la digestión gastrointestinal *in vitro* de compuestos de *Cornus officinalis* (Cereza de cornalina japonesa) abordando la fase oral, gástrica e intestinal demostrando así que los glucósidos iridoides con respecto a los fenoles son menos estables después de abordar dichas fases.

Gómez-García et al. (2022) en su estudio sobre la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* de los compuestos bioactivos del jugo de cáscara de *Cucumis melo* L.(melón) en polvo, demostraron que se reducen las propiedades antioxidantes de dichos compuestos al abordar la fase de la boca, del estómago y del intestino. Lima et al. (2019) demostraron la disminución de la capacidad antioxidante y la pérdida de los fenoles de *Artemisia gorgonum* (lasna) y *Hyptis pectinata* L. (Mastranto) posterior a la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* abarcando la fase gástrica e intestinal.

Ortega-Vidal et al. (2019) estudiaron la infusión de *Jasonia glutinosa* (té de roca) demostrando que se pierde un porcentaje de compuestos bioactivos, pero aun así se observa actividad antioxidante después de abordar la simulación gastrointestinal *in vitro*, en dicho estudio simularon la fase gástrica e intestinal mas no la fase salivaria ya que una infusión se ingiere directamente siento el tiempo muy corto en la fase bucal.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

La investigación se realizó en el Laboratorio Central de Investigación (LCI) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicada en la ciudad de Tingo María, a 680 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa media de 84%.

#### 3.2. Materia prima

Hojas frescas de *V. officinalis* (Verbena), recolectadas del caserío Santa Lucía, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco en el Centro de Investigación y producción Tulumayo Anexo La Divisoria (CIPTALD) de la UNAS ubicada en las coordenadas UTM 385730 este y 8990745 norte, con altitud de 620 m.s.n.m., humedad relativa media 75%, temperatura promedio  $24 \pm 2$  °C.

#### 3.3. Equipos, materiales y reactivos

##### 3.3.1. Equipos

Balanza analítica (RADWAG, AS220.R2, Polonia); estufa eléctrica (MMM Group, EC 222 ECO, Alemania), ultracongelador vertical  $-40$  °C (Cimmsa, CCF/L-530, Perú), licuadora eléctrica (Oster, BLSTBC4129-053, México); espectrómetro FTIR (InfraLUM FT-08, Lumex, Canadá), refrigerador (Frigidaire, FFU-17F5HW, EE. UU), *mini spray-dryer* (BUCHI Labortechnik AG, S-300 Bas, Suiza), calorímetro (Setaram, Labsys evo robot opción, USA), espectrofotómetro UV – Visible (Thermo Scientific, GENESYS 150, EE. UU), incubadora (EFE CLAVE, EFE450, Perú), centrífuga (HETTICH, MIKRO 22 R, Alemania); sonótrodo (Hielscher, UP50H, Alemania), Microscopio Electrónico de Barrido (Phenom-World B.V., Phenom ProX, Países Bajos), pHmetro (Thermo Scientific, Orión Star A-215, EE. UU.), agitador vórtex (Scientific Industries SI™, SI-0256, EE. UU.) metalizador (Leica, EM ACE200, EE. UU.).

##### 3.3.2. Materiales

Matraz aforado, microtubos, micropipetas, tubos de vidrio, crisoles, papel filtro Whatman, embudo Buchner, vaso precipitado, perlas de vidrio, desecador, balón Kjeldahl, matraz Erlenmeyer, cuchillo, bandejas, tubo de ensayo, gradilla, bolsas de polietileno de alta densidad, envases tr laminados de aluminio, frascos oscuros, pinzas metálicas, buretas, tubos de centrifuga, termómetro y cubetas.

### 3.3.3. Reactivos

Agua destilada, reactivo diluido de Folin-Ciocalteu, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, ácido clorhídrico concentrado, etanol, radical libre DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidracilo*), radical libre ABTS (*2,2'-Azinobis-3-etil-benzo-tiazolina-6-acido sulfónico*). ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (ácido gálico) y catequina.

### 3.4. Métodos de análisis

**Microencapsulación de compuestos bioactivos:** Metodología propuesta por Iturri et al. (2021) (adaptado para extractos vegetales)

**Cuantificación de compuestos fenólicos:** Método espectrofotométrico propuesto por Obanda et al. (1997) expresado como miliequivalente de ácido gálico.

**Cuantificación de flavonoides totales:** Método espectrofotométrico propuesta por Costa et al. (2014) expresado como miliequivalente de catequina.

**Cuantificación de la capacidad antioxidante:** La capacidad antioxidante DPPH se cuantifico utilizando la metodología de Alam et al. (2013) mediante la captura del radical libre (*2,2-difenil-1-picrilhidracilo*). Para la capacidad antioxidante ABTS se utilizó la metodología de Re et al. (1999) mediante la captura del radical libre *2,2'-Azinobis-3-etil-benzo-tiazolina-6-acido sulfónico*.

**Identificación del grupo funcional OH:** Método donde se utiliza el espectrofotométrico infrarrojo por transformada de Fourier, propuesto por Khawas y Deka (2017).

**Determinación de la temperatura de transición vítrea:** Método descrito por Jiang et al. (2012), adaptado por Iturri et al. (2021).

**Análisis de la microestructura de las microcápsulas:** Para determinar la distribución de tamaño y la microestructura mediante el microscopio electrónico de barrido. Se utilizó la metodología propuesta por Liu t al. (2018).

**Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* de las microcápsulas:** Se utilizó el método descrito por Briones-Labarca et al. (2011) con algunas adaptaciones para microcápsulas recomendadas por Iturri et al. (2021).

### 3.5. Metodología experimental

#### 3.5.1. Determinación de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena

##### Acondicionamiento de la muestra

Se recolectaron plantas de verbena en horas de la mañana y se envasaron en bolsas de polietileno de alta densidad (PEBD). Luego fueron transportadas al Laboratorio

Central de Investigación (LCI) de la UNAS. Donde se realizó el deshojado y la selección de las hojas, seguidamente, se descartaron las hojas con daños físicos o las afectadas por insectos. Seguidamente las hojas seleccionadas fueron lavadas por inmersión en agua destilada y se dejó orear por 20 min en una mesa de acero inoxidable.

### **Extracción asistida por ultrasonido**

Se tomó 10 g de muestra de verbena oreada y se licuó por 15 segundos con 250 mL de agua destilada hasta obtener el extracto que posterior fue sometido a ondas acústicas a través de un agitador ultrasónico. La sonicación fue aplicada a una frecuencia de 24 kHz (80% de 30 kHz como su máxima potencia) por un tiempo de 38 minutos, estos parámetros fueron obtenidos por pruebas de optimización, luego la suspensión fue centrifugada a 10 000 rpm por 10 min a 4 °C. Finalmente, el sobrenadante se almacenó en congelación a -40 °C para realizar los posteriores análisis de los compuestos fenólicos y de los flavonoides se realizaron según la metodología de Obanda et al. (1997) y Costa et al. (2014) respectivamente.

### **3.5.2. Determinación de la eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos y flavonoides del extracto de verbena**

#### **Microencapsulación mediante secado por aspersión**

Se utilizó la metodología propuesta por Iturri et al. (2021) que fue adaptado para extractos vegetales. Inicialmente, el sobrenadante congelado del extracto se descongeló lentamente en un refrigerador a 4 °C. Después de alcanzar el equilibrio térmico con la temperatura ambiente, las concentraciones en porcentaje masa-volumen (% m/v) es decir masa del material de pared (goma arábica y maltodextrina DE10) y volumen de extracto acuoso fueron preparadas. Las concentraciones para cada material de pared fueron 2,5%, 5%, 10% y 15%. Con las concentraciones listas para el secado, se microencapsuló utilizando el mini *spray-dryer*. Los parámetros del proceso fueron: caudal de alimentación de 4,2 L/h, caudal de aire de secado de 5,95 L/min, caudal de aire de aspiración de 0,58 m<sup>3</sup>/min, presión de atomización de 6 bar y se utilizaron dos temperaturas de bulbo seco de entrada del aire de secado 120 y 140 °C. Luego de obtener las microcápsulas de cada tratamiento se envasaron en frascos de rosca ámbar para luego realizar los análisis. A las microcápsulas de los 16 tratamientos se analizaron compuestos fenólicos y flavonoides totales, determinando así el mejor tratamiento en función a estos compuestos y al rendimiento. La eficiencia de microencapsulación por el método de secado por aspersión fue calculada en función de los compuestos fenólicos y flavonoides totales utilizando las siguientes ecuaciones.

$$\text{Conservación de CF (\%)} = \frac{[\text{mg EAG}]^{\text{Microcápsulas}}}{[\text{mg EAG}]^{\text{Extracto de hojas}}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Conservación de FT (\%)} = \frac{[\text{mg EC}]^{\text{Microcápsulas}}}{[\text{mg EC}]^{\text{Extracto de hojas}}} \times 100 \quad (2)$$

Donde, CF = Compuestos fenólicos, FT = Flavonoides totales, EAG = Equivalente ácido gálico, EC = Equivalente catequina.

### 3.5.3. Identificación del grupo funcional hidroxilo (OH) en las microcápsulas

En el día 0 se realizó el análisis de perfil de enlaces químicos OH, se utilizó la espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para identificar el grupo funcional hidroxilo (OH) presente en las microcápsulas. Los datos espectrales se obtuvieron con un espectrómetro FTIR acoplado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de reflexión única, equipado con un cristal de ZnSe para cada análisis, primero se obtuvo el espectro de fondo (*background*), el cual consiste en obtener las interferencias del ambiente realizando la lectura en un cristal limpio y se representó en unidades de transmitancia (%). Inmediatamente después de obtener el *background* se obtuvo el espectro de las microcápsulas, para lo cual la muestra se colocó sobre el cristal, ejerciendo presión con el accesorio mismo y cubriendo completamente. Para el *background* y el espectro de las microcápsulas se realizaron 256 barridos espectrales en el rango de 550 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$  como recomienda Khawas y Deka (2017). Los cristales de ATR se limpiaron con alcohol isopropílico antes y después de obtener los espectros para eliminar rastros de cualquier interferencia. El cristal limpio se examinó visualmente para asegurar de que ningún residuo de la muestra anterior fuera retenido en la superficie y se verificó con la obtención del espectro de fondo (*background*) tal como recomienda Meza-Márquez et al. (2010). Los espectros obtenidos se exportaron al *software* OriginPro (versión 9, OriginLab corporation, MA, USA) donde se optimizaron visualmente. Todo el experimento se realizó a una temperatura de  $22 \pm 2$  °C y humedad relativa menor a 70%.

### 3.5.4. Análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Este análisis se determinó en el día 0 se realizó con la finalidad de encontrar la adecuada temperatura de almacenamiento en función de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se efectuó el análisis de DSC. Este análisis se determinó usando el método descrito por Jiang et al. (2012), empleando un calorímetro (Setaram, Labsys evo robot option, USA). Se pesó  $6,46 \pm 0,4$  mg de microcápsulas en un crisol de aluminio, luego el crisol fue sellado. El calorímetro se calibró con indio (99,99% pureza, temperatura de fusión 126,63 °C), posterior a

ello la muestra tuvo un calentamiento de 25 °C hasta 200 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, con flujo de argón de 30 mL/min, la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) se determinó utilizando el *software* Calisto siguiendo el método propuesto por Iturri et al. (2021).

### 3.5.5. Análisis de la microestructura de las microcápsulas

Se utilizó la metodología descrita por Liu et al. (2018), para determinar la distribución de tamaño, las microestructuras de las microcápsulas fueron observadas mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM) (Thermo Fisher Scientific, Phenom ProX, USA). Las microcápsulas se fijaron al portamuestras de aluminio con una cinta de carbono, se revistió con una película de oro en el metalizador (Leica, EM ACE200, USA) por 5 min y espesor de 5 nm. Las micrografías fueron observadas a un aumento de 1000x a 3000x, y se utilizó un voltaje de aceleración de 15 kV durante la obtención de imágenes.

### 3.5.6. Evaluación de la bioactividad de las microcápsulas

A las microcápsulas de los 16 tratamientos se analizaron compuestos fenólicos y flavonoides totales, determinando así el mejor tratamiento en función a estos compuestos y al rendimiento, posteriormente, el mejor tratamiento se almacenó por 30 días para determinar la vida útil y cada 3 días se evaluó la bioactividad (compuestos fenólicos, flavonoides, capacidad antioxidante) y en el día 0 al inicio del almacenamiento se realizaron los siguientes análisis: perfil de enlaces químicos OH, análisis de DSC, microestructura y simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Para cuantificar la bioactividad primero se preparó la disolución de las microcápsulas donde se pesaron 0,5 g de microcápsulas y se mezcló con 10 mL de agua destilada, dado que los materiales de sus paredes, (maltodextrina DE10 y goma arábiga) son solubles en agua. Posteriormente en ambiente oscuro la mezcla se agitó por 4 horas a temperatura ambiente, luego cada muestra se centrifugó a 10 000 rpm por 20 min a 4 °C, para luego realizar los análisis correspondientes.

**Cuantificación de compuestos fenólicos:** La cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó siguiendo la metodología propuesta por Obanda et al. (1997). Se cuantificaron los compuestos fenólicos usando 100 µL de la disolución de micropartículas y añadiendo 500 µL del reactivo diluido Folin-Ciocalteu (1:10 agua destilada). Se agitó por 5 min, luego se añadió 400 µL de carbonato de sodio a 7,5% (m/v) y se dejó reposar por 120 min en total oscuridad. Se midió la absorbancia a 740 nm con un espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Scientific, Genesys 150, USA). Finalmente se calculó la concentración de compuestos fenólicos utilizando una curva de calibración de ácido gálico (rango de 1 - 10 µg/mL) como se muestra en la Figura

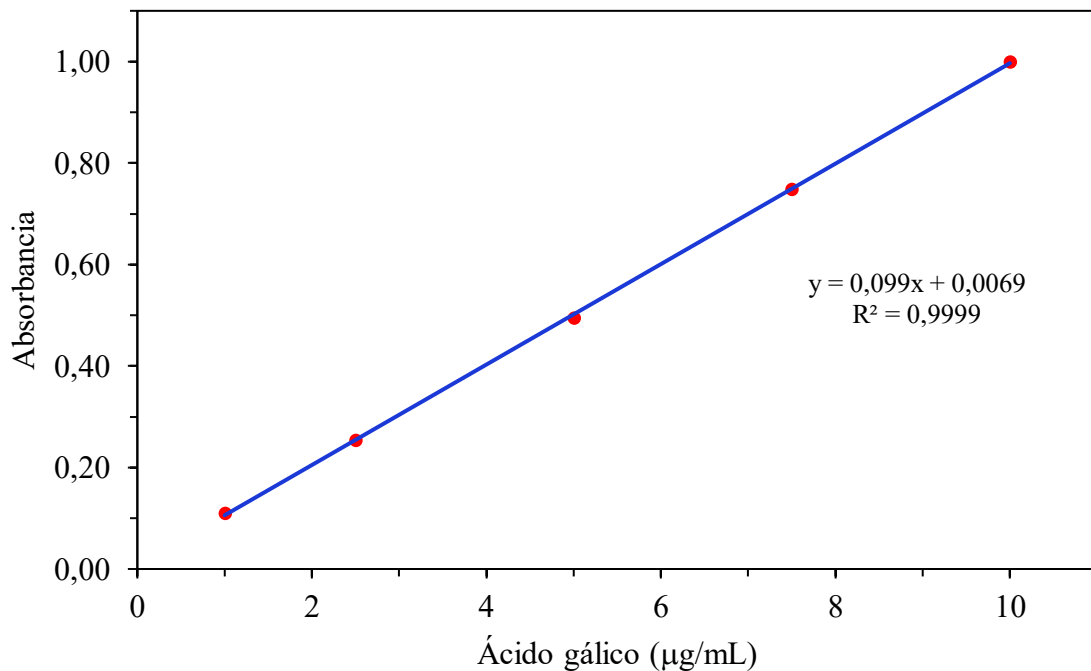
1 en función de la ley de Beer-Lambert. El resultado fue reportado como mg de equivalente ácido gálico/100g de muestra (mg EAG/100g), utilizando la siguiente ecuación:

$$[\text{Compuestos fenólicos}] = \left( \frac{A-b}{a} \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) (\text{d.f}) \left( \frac{V}{m} \frac{\text{mL}}{\text{g}} \right) \left( \frac{10^{-3} \text{ mg}}{1 \mu\text{g}} \right) (100 \text{ g}) \quad (3)$$

$$[\text{Compuestos fenólicos corregido}] = ([\text{Compuestos fenólicos}] - (\text{PTMP})) \frac{\text{mg EAG}}{100 \text{ g}} \quad (4)$$

$$[\text{Masa de fenoles}] = \left( [\text{Compuestos fenólicos corregido}] \frac{\text{mg EAG}}{100 \text{ g}} \times [M] \text{ g} \times 100 \right) \text{mg EAG} \quad (5)$$

En que, A = Absorbancia de la muestra; b = Término de intersección de la curva estándar; a = Pendiente de la curva estándar; d.f = Factor de dilución; V= Volumen total del extracto, m = Masa de las microcápsulas utilizadas en el análisis; PTMP = Concentración de compuestos fenólicos del material de pared; M = masa total de microcápsulas producidas por tratamiento



**Figura 1.** Curva estándar de ácido gálico para determinar compuestos fenólicos

**Cuantificación de flavonoides:** Los flavonoides totales se cuantificaron según la metodología propuesta por Costa et al. (2014). Se mezclaron 100 µL de la disolución de micropartículas con 400 µL de agua desionizada y 30 µL de nitrito de sodio (25% m/v). Después de 5 min de incubación a temperatura ambiente, se añadió 30 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10% (m/v). Después de 1 min, se adicionó 200 µL de hidróxido de sodio (1 M) y 240 µL de agua desionizada. Las medidas de

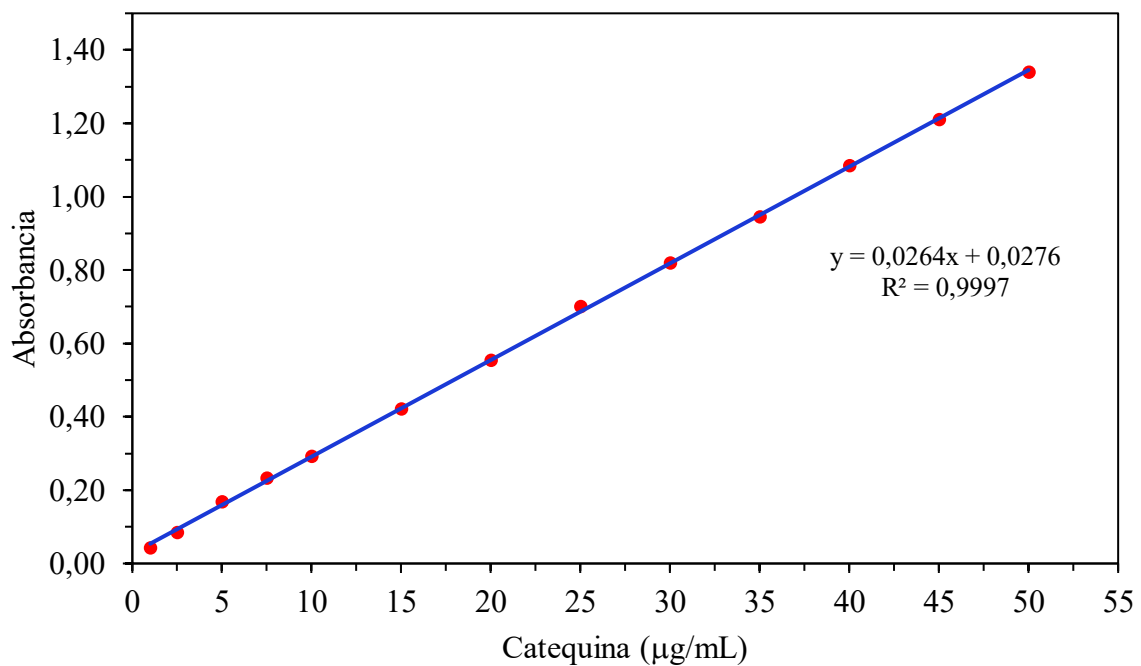
absorbancia se realizaron a 510 nm con un espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Scientific, Genesys 150, USA). Se preparó una curva de calibración con catequina (rango de 1 a 50  $\mu\text{g/mL}$ ) como se muestra en la Figura 2, los resultados se reportaron en mg equivalentes de catequina (mg EC/100 g de muestra), utilizando la siguiente ecuación:

$$[\text{Flavonoides totales}] = \left( \frac{A-b}{a} \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) (\text{d.f.}) \left( \frac{V}{m} \frac{\text{mL}}{\text{g}} \right) \left( \frac{10^{-3} \text{ mg}}{1 \mu\text{g}} \right) (100 \text{ g}) \quad (6)$$

$$[\text{Flavonoides totales corregido}] = ([\text{Flavonoides totales}] - (\text{FTMP})) \frac{\text{mg EC}}{100 \text{ g}} \quad (7)$$

$$[\text{Masa de flavonoides}] = ([\text{Flavonoides totales corregido}] \frac{\text{mg EC}}{100 \text{ g}} \times [M] \text{ g} \times 100) \text{ mg EC} \quad (8)$$

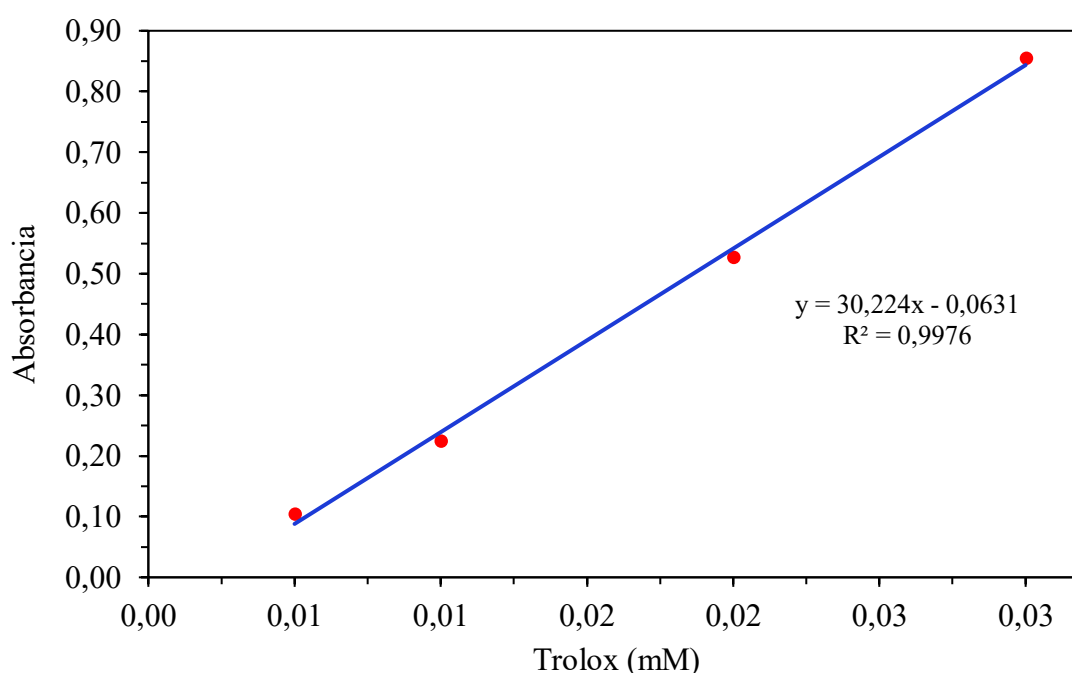
En que, A = Absorbancia de la muestra; b = Término de intersección de la curva estándar; a = Pendiente de la curva estándar; d.f. = Factor de dilución; V = Volumen total del extracto (mL), m = Masa de las microcápsulas para el análisis; FTMP = Concentración de flavonoides totales del material de pared; M = masa total de microcápsulas producidas por tratamiento.



**Figura 2.** Curva estándar de catequina para determinar flavonoides totales

**Capacidad antioxidante por el método de la captura del radical libre DPPH:** Para su cuantificación fue utilizada la metodología de Alam et al. (2013). Se preparó la solución madre del radical libre DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidracilo*) usando una fiola de 50 mL donde se adicionó 0,012 g de radical y se aforó con etanol al 80% en agua destilada. Luego, en una fiola de 100 mL se agregó 10 mL de esta solución madre y se aforó nuevamente con etanol absoluto

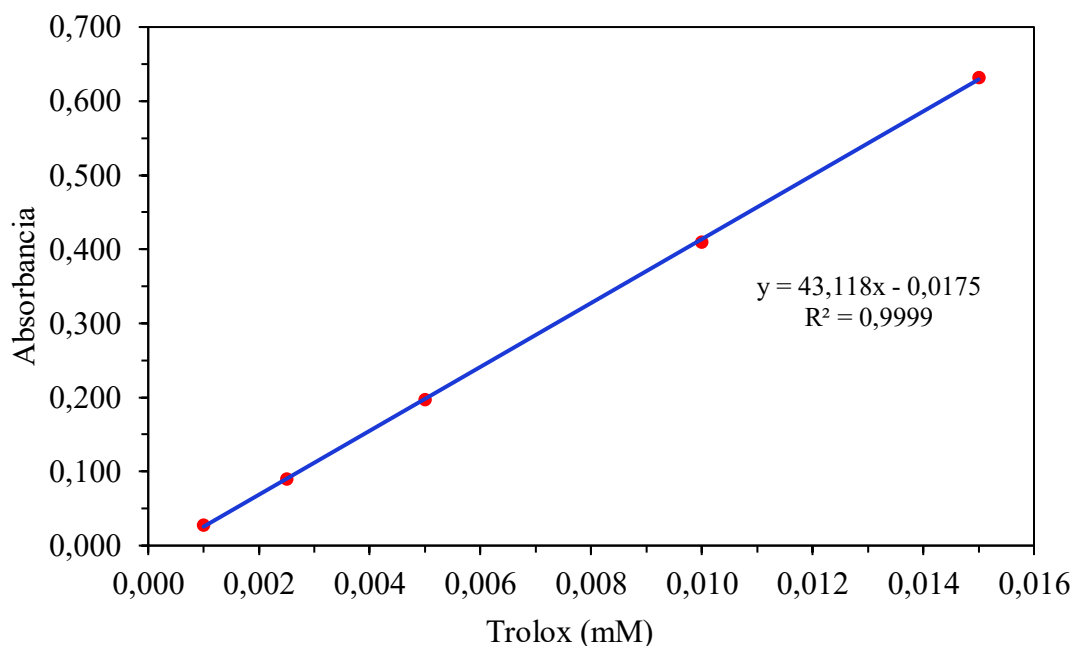
hasta obtener una absorbancia de  $1,0 \pm 0,1$  a una longitud de onda de 515 nm medida en un espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Scientific, Genesys 150, USA). Además, se preparó una curva estándar de Trolox como se muestra en la Figura 3 desde 0,01 hasta 0,03 mM, para la cuantificación de la capacidad antioxidante se utilizó 150  $\mu$ L de la disolución de micropartículas y se mezcló con 2850  $\mu$ L de solución de DPPH y se dejó reposar por 30 min en total oscuridad a temperatura ambiente y los resultados se reportaron en mmol equivalentes de Trolox (mmol ET/100 g de muestra).



**Figura 3.** Curva estándar de trolox para determinar la capacidad antioxidante por la captura del radical libre DPPH

**Capacidad antioxidante por el método de la captura del radical libre ABTS:** Fue utilizada la metodología propuesta por Re et al. (1999). Se prepararon dos soluciones madres, A y B, preparadas 12 a 16 horas antes de su empleo. Para la solución madre A se pesó 0,078 g de ABTS (*2,2'-Azinobis-3-etil-benzo-tiazolina-6-acido sulfónico*) y fue enrazado en una fiola de 10 mL con etanol, y para la solución madre B se pesó 0,013 g de persulfato de potasio y también se enrazó en una fiola de 10 mL con etanol. Luego se mezclaron la solución madre A y B en proporciones de 1:1 de volumen. Para obtener la solución del radical libre ABTS se usó una fiola de 100 mL y se agregó 5 mL de la mezcla de la solución madre A y B, y se aforó con etanol hasta llegar a una absorbancia de  $1,1 \pm 0,2$  a longitud de onda de 734 nm medida en un

espectrofotómetro UV/VIS (Thermo Scientific, Genesys 150, USA). Además, se construyó una curva estándar de Trolox de 0,001 hasta 0,015 mM como se muestra en la Figura 4, a continuación, en un tubo de ensayo se mezcló 30  $\mu\text{L}$  de la disolución de micropartículas con 2970  $\mu\text{L}$  de solución del radical libre ABTS y se procedió a la lectura, el resultado fue expresado como mmol equivalentes de Trolox (mmol ET/100 g de muestra).



**Figura 4.** Curva estándar de trolox para determinar la capacidad antioxidante por la captura del radical libre ABTS

### 3.5.7. Determinación de la vida útil de las microcápsulas

#### Almacenamiento de las microcápsulas

Las microcápsulas del mejor tratamiento fueron colocadas en placas petri abiertas en una campana de desecación donde se controló la humedad relativa mediante una solución saturada de cloruro de sodio (NaCl) obteniendo una humedad relativa de 72% y luego la campana conteniendo las placas fue colocada en una estufa a 30 °C, inferior a la temperatura de transición vítrea ( $T_g = 78$  °C) de las microcápsulas determinada por DSC.

**Modelos matemáticos para el cálculo de la vida útil de las microcápsulas:** Se utilizaron dos modelos matemáticos vinculados a la calidad sensorial de alimentos, la ecuación modificada tipo *Weibull* y la ecuación original de una ecuación diferencial ordinaria de primer orden (EDO) de Gammariello et al. (2008), esas dos ecuaciones fueron adaptadas para calcular la vida útil en términos de la calidad bioactiva de las microcápsulas.

### Modelo de Gammariello et al. (2008)

$$OSQ(t) = OSQ_{min} + A_Q e^{\left[ -e^{\left[ 2.7182 \mu_{max} \left( \frac{\theta_Q - SAL}{A_Q} \right) + 1 \right]} \right]} - A_Q e^{\left[ -e^{\left[ 2.7182 \mu_{max} \left( \frac{\theta_Q - t}{A_Q} \right) + 1 \right]} \right]} \quad (9)$$

Donde  $OSQ(t)$  es la calidad bioactiva general de las microcápsulas almacenadas en el tiempo  $t$ ,  $OSQ_{min}$  es la calidad bioactiva mínima aceptable,  $A_Q$  es el valor inicial de la calidad bioactiva, SAL es el tiempo que se llega al mínimo valor,  $\theta_Q$  tiempo de latencia,

$\mu_{max}$  un parámetro de ajuste.

### Modelo modificado de tipo Weibull

$$OSQ(t) = OSQ_{min} - (K_2) e^{\left[ -\left( \frac{SAL}{\beta} \right)^\alpha \right]} + (K_2) e^{\left[ -\left( \frac{t}{\beta} \right)^\alpha \right]} \quad (10)$$

Donde  $OSQ(t)$  es la calidad bioactiva general de las microcápsulas almacenadas en el tiempo  $t$ ,  $OSQ_{min}$  es la calidad bioactiva mínima aceptable y  $K_2, \alpha, \beta$  son parámetros de ajuste, SAL es el límite de aceptabilidad de la calidad bioactiva.

### 3.5.8. Simulación de la digestión gastrointestinal in vitro de las microcápsulas

Esta evaluación se realizó al mejor tratamiento en función a compuestos fenólicos y flavonoides totales durante el almacenamiento en el día 0, fue abordado la fase salivaría, gástrica e intestinal. La simulación de digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó utilizando el método descrito por Briones-Labarca et al. (2011) con algunas adaptaciones para microcápsulas recomendadas por Iturri et al. (2021). Inicialmente se pesaron 500 mg de microcápsulas, posterior a ello se realizaron las tres fases.

**Fase salivaría:** Las microcápsulas fueron disueltas con 3 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 50 mL envuelto con papel aluminio, y luego se reguló el pH a 6 con  $\text{NaHCO}_3$  a 1 M, seguidamente se adicionó 0,1 mg de enzima  $\alpha$ -amilasa/mL de agua utilizada en la dilución de microcápsulas y luego se colocó en la incubadora (EFE CLAVE, EFE450, Perú), por un tiempo de 60 s a 37 °C sin agitación.

**Fase gástrica:** La solución de la fase salivaría se colocó en un matraz aforado de 25 mL envuelto con papel aluminio y fue enrazado con agua destilada. La mezcla se colocó en un Erlenmeyer de 50 mL envuelto con papel de aluminio y posteriormente se le ajustó el pH a 2 utilizando HCl a 1 M. Luego se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de pepsina (50 mg de pepsina/mL en HCl 0,1N) por cada gramo de microcápsulas y se llevaron a la incubadora (EFE CLAVE, EFE450, Perú), a 37 °C durante 2 h con agitación a 100 rpm.

**Fase intestinal:** Para esta última etapa, a la solución gastrodigestiva se ajustó el pH a 6 con  $\text{NaHCO}_3$  a 1 M, luego se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de una solución mixta de pancreatina y bilis (4 mg de pancreatina/mL y 24 mg de bilis/mL en  $\text{NaHCO}_3$  a 0,1 M) por cada gramo de microcápsula. La muestra se llevó nuevamente a la incubadora (EFE CLAVE, EFE450, Perú), a 37 °C durante 2 h con agitación de 100 rpm.

Las microcápsulas digeridas *in vitro* fueron centrifugadas a 4 °C por 20 min a 10000 rpm, seguidamente fueron filtradas a través de papel filtro de porosidad de 7  $\mu\text{m}$  y almacenadas a -40 °C en un ultracongelador (Cimmsa, CCF/L-530, Perú), para su posterior análisis de compuestos bioactivos.

Para calcular la eficiencia de protección de la bioactividad durante la digestión gastrointestinal *in vitro* se utilizaron las siguientes ecuaciones.

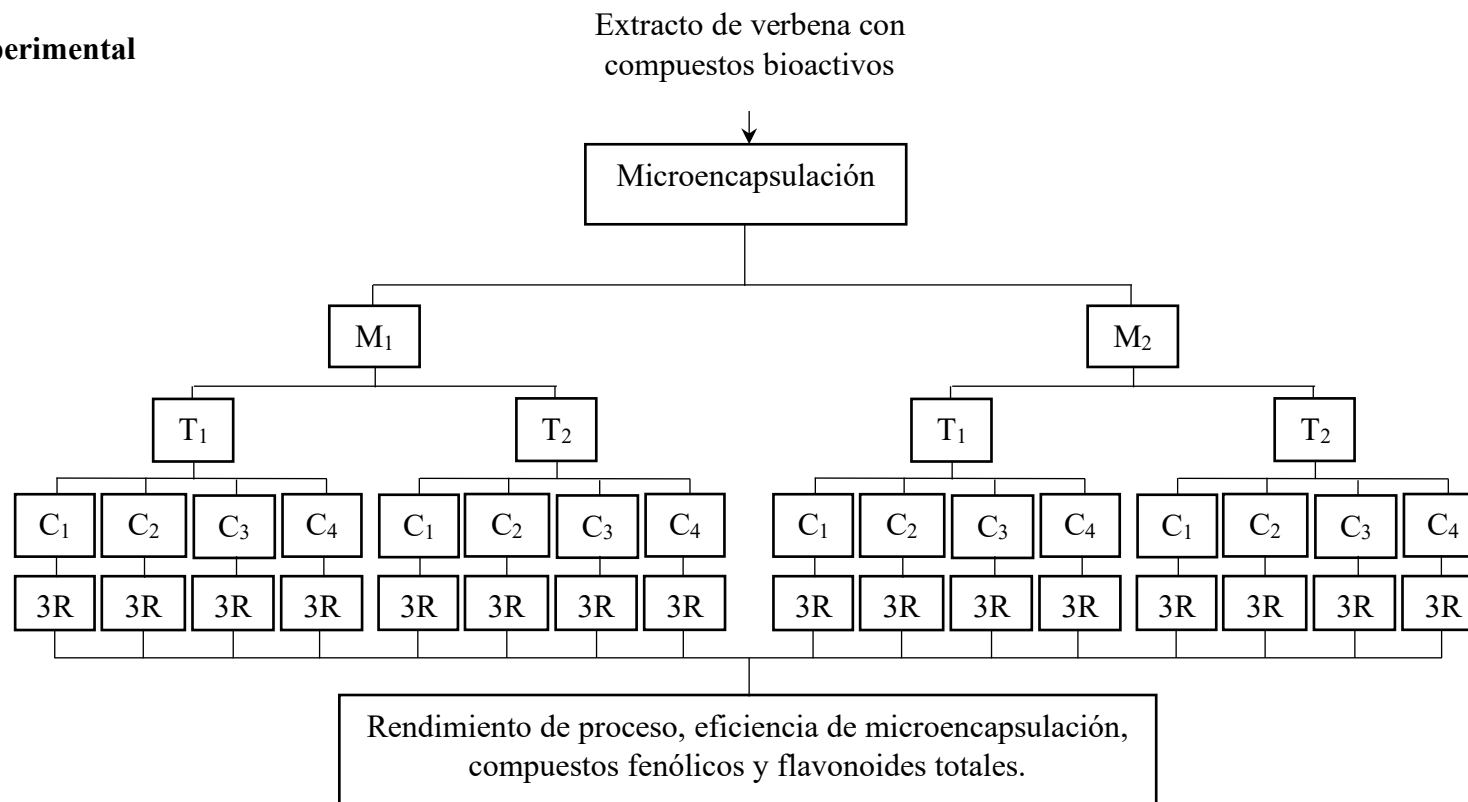
$$\text{Protección de CF (\%)} = \frac{\left[ \text{CF} \frac{\text{mg EAG}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Después de la digestión } in vitro}}{\left[ \text{CF} \frac{\text{mg EAG}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Microcápsulas}}} \times 100 \quad (11)$$

$$\text{Protección de FT (\%)} = \frac{\left[ \text{TP} \frac{\text{mg EC}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Después de la digestión } in vitro}}{\left[ \text{FT} \frac{\text{mg EC}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Microcápsula}}} \times 100 \quad (12)$$

$$\text{Protección ABTS (\%)} = \frac{\left[ \text{ABTS} \frac{\text{mmol ET}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Después de la digestión } in vitro}}{\left[ \text{ABTS} \frac{\text{mmol ET}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Microcápsulas}}} \times 100 \quad (13)$$

$$\text{Protección DPPH (\%)} = \frac{\left[ \text{DPPH} \frac{\text{mmol ET}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Después de la digestión } in vitro}}{\left[ \text{DPPH} \frac{\text{mmol ET}}{100 \text{ g}} \right]^{\text{Microcápsulas}}} \times 100 \quad (14)$$

### 3.6. Diseño experimental



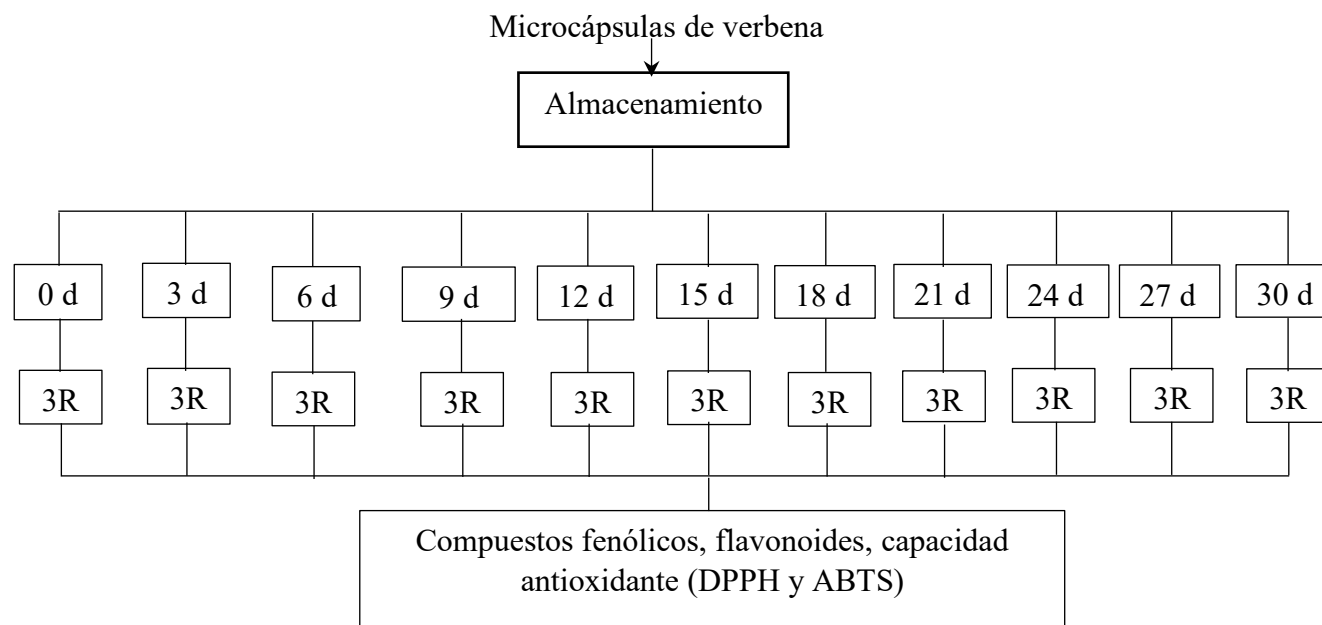
**Figura 5.** Diseño experimental de microencapsulación de extracto de verbena mediante secado por aspersión.

M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> = Material de pared, maltodextrina DE10 y goma arábica.

T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> = Temperatura de secado 120 °C y 140 °C.

C1, C2, C3, C4 = Concentración de material de pared en función del volumen de extracto acuoso: 2,5%, 5%, 10% y 15%.

R = Repeticiones.



**Figura 6.** Diseño experimental para determinar la vida útil de las microcápsulas

Donde d = Días de almacenamiento; R = Repeticiones

Para determinar la vida útil se evaluó mediante los modelos matemáticos de *Gammariello* y *Weibull*. En el día 0 se identificó del grupo funcional hidroxilo OH, análisis térmico, microestructura y la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Compuestos bioactivos en el extracto de verbena

La concentración de los compuestos bioactivos extraídos mediante ondas acústicas por un tiempo de 38 min a una frecuencia de 24 kHz se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena

Bioactividad	Contenido
<b>Compuestos fenólicos</b>	1453,39 ± 31,98 mg EAG/100 g de muestra
<b>Flavonoides totales</b>	442,08 ± 12,34 mg EC./100 g de muestra
<b>Masa promedio de compuestos fenólicos</b>	290,678 mg EAG
<b>Masa promedio de flavonoides totales</b>	88,415 mg EC

La humedad de las hojas frescas de verbena fue de 73,01 %, con ello los resultados de la Tabla 1 pueden expresarse en base seca, resultando en 53,85 ± 1,18 mg EAG/g de muestra seca para compuestos fenólicos y 16,38 ± 0,46 mg EC/g de muestra seca para flavonoides, estos resultados son mayores a los obtenidos por Falleh et al. (2021) en solución acuosa por el método de Soxhlet quienes obtuvieron en hojas de verbena una concentración de compuestos fenólicos de 4,6 mg EAG/g de muestra seca y 0,6 mg EC/g de muestra seca de flavonoides, estas diferencias se deben al método de extracción utilizado. Por otro lado, Polumackanycz et al. (2022) utilizaron extracción con ultrasonido por un tiempo de 15 min y obtuvieron en hojas de verbena una concentración de compuestos fenólicos de 25,45 ± 3,81 mg EAG/g de materia seca, esta diferencia se debe al menor tiempo sometido a ondas acústicas.

### 4.2. Eficiencia de la microencapsulación de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de verbena

Para corregir las concentraciones de bioactividad de las microcápsulas fueron cuantificadas la bioactividad de cada material de pared, es decir la concentración de PTMP y FTMP, la concentración de polifenoles totales para maltodextrina DE10 y goma arábiga fueron 30,09 ± 3,1 mg EAG/100 g y 134,49 ± 30,09 mg EAG/100 g, respectivamente. La concentración de flavonoides fue de 0,00 mg EC/100 g para ambos materiales de pared.

Para analizar la confiabilidad de los datos experimentales respecto a las concentraciones de fenoles totales y flavonoides se realizó la prueba de la distribución normal

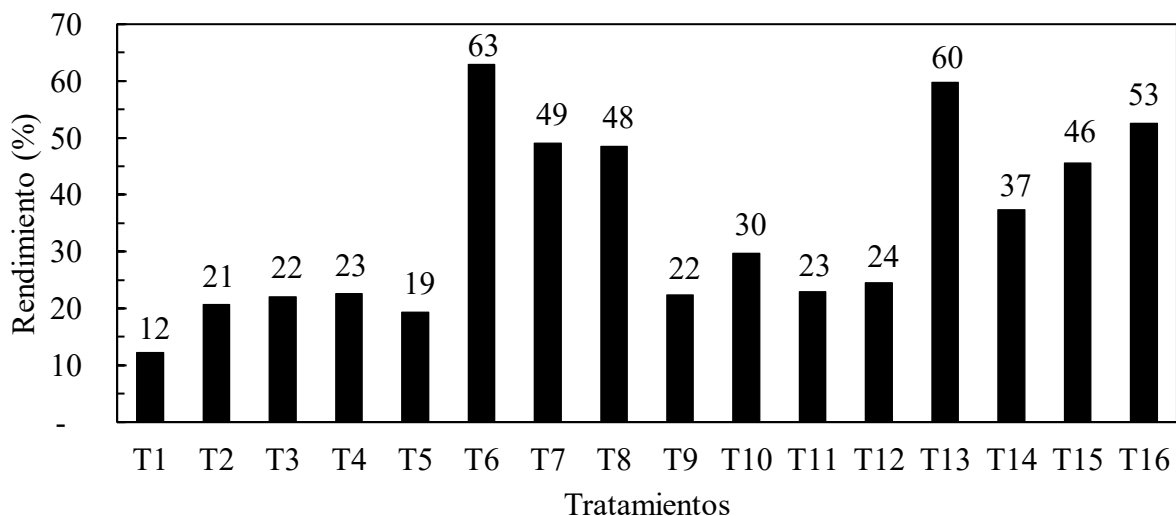
mediante los *tests* de *Shapiro-Wilk*, *Kolmogorov-Smirnov* y Chi-cuadrado, para que los datos experimentales obedezcan a una distribución normal al menos uno de estos tests debe ser no significativo ( $p\text{-value} > 0,05$ ), los resultados de esta prueba (A-IV) para los datos experimentales de las concentraciones de fenoles totales solo el *test* de *Shapiro-Wilk* es significativo ( $p < 0,05$ ) y los tests *Kolmogorov-Smirnov* y Chi-cuadrado son no significativos ( $p > 0,05$ ), consecuentemente esos datos experimentales presentan una distribución normal. Para flavonoides totales los *test de Shapiro Will*, *Kolmogorov-Smirnov* y Chi-cuadrado el  $p\text{-value}$  fue mayor que 0,05), es decir los datos de flavonoides presentan una distribución normal. En general los datos experimentales presentan una distribución normal, y son aptos para realizar el análisis de homogeneidad varianza (A-V) a través del *test* de *Levene* para fenoles totales como para flavonoides, demostrando así la existencia de homogeneidad de varianza de los datos experimentales en las repeticiones de los tratamientos. Después de comprobar que los datos presentan una distribución normal con homogeneidad de varianza se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA) (A-VI y A-VII) y posterior la comparación de medias con la prueba de Tukey. En la Tabla 2 se observa que existe diferencia estadística entre tratamientos ( $p < 0,05$ ). El tratamiento con mayor eficiencia de microencapsulación para compuestos fenólicos es el T8 ( $78,72 \pm 3,58 \%$ ), seguido por los tratamientos T6 ( $71,98 \pm 3,01 \%$ ) y T7 ( $70,09 \pm 2,33 \%$ ), el tratamiento T8 presenta diferencia estadística significativa con todos los tratamientos (T1...T16, excepto con T8). Los tratamientos con mayores eficiencias de microencapsulación para flavonoides totales son el T8 ( $78,03 \pm 6,30 \%$ ) y T6 ( $72,02 \pm 4,59 \%$ ), estos tratamientos presentan diferencia estadística significativa con todos los tratamientos (T1...T16, excepto el T6 y T8). En consecuencia, los mejores tratamientos para conservar la bioactividad de las hojas de verbena son el T6 y T8, sin embargo, en términos de rendimiento de proceso el tratamiento T6 (63 %) es superior al tratamiento T8 (48 %), lo que sugiere que el tratamiento más adecuado para el proceso de microencapsulación de compuestos bioactivos de esta matriz es el T6 (MD-140 °C -5%), Tolun et al. (2016) también demostraron que la temperatura de 140 °C del aire de secado origina mayor eficiencia de microencapsulación de compuestos bioactivos de *Vitis vinifera* L. (uva) utilizando maltodextrina. Luego de determinar que el mejor tratamiento corresponde al tratamiento T6 (MD-140 °C -5%), nuevamente se procedió a producir microcápsulas para su almacenamiento y posterior análisis con las condiciones de este tratamiento, estos análisis fueron determinación de enlaces químicos OH, análisis térmico, tamaño de partícula y simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Los resultados de rendimiento de proceso y eficiencia de microencapsulación respecto a compuestos

fenólicos fueron 63,8 % y  $72,63 \pm 3,47$  % respectivamente, estos resultados coinciden con los valores de la Tabla 2.

**Tabla 2.** Rendimiento de proceso y eficiencia de la microencapsulación de los compuestos fenólicos y flavonoides.

Tratamientos	Rendimiento de proceso (%)	Eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos (%)	Eficiencia de microencapsulación de flavonoides (%)
T1=MD -2,5%-120°C	12	(14,95 ± 0,47) <sup>i</sup>	(14,99 ± 0,98) <sup>j</sup>
T2=MD -5%-120°C	21	(26,32 ± 0,94) <sup>gh</sup>	(27,09 ± 1,77) <sup>hi</sup>
T3=MD-10%-120°C	22	(33,32 ± 1,47) <sup>ef</sup>	(31,75 ± 2,86) <sup>gh</sup>
T4=MD-15%-120°C	23	(37,75 ± 1,23) <sup>e</sup>	(38,54 ± 2,55) <sup>efg</sup>
T5=MD-2,5%-140°C	19	(20,53 ± 0,61) <sup>hi</sup>	(19,64 ± 0,67) <sup>ij</sup>
T6=MD-5%-140°C	63	(71,98 ± 3,01) <sup>b</sup>	(72,02 ± 4,59) <sup>ab</sup>
T7=MD-10%-140°C	49	(70,09 ± 2,33) <sup>bc</sup>	(65,67 ± 5,57) <sup>b</sup>
T8=MD-15%-140°C	48	(78,72 ± 3,58) <sup>a</sup>	(78,03 ± 6,30) <sup>a</sup>
T9=GA-2,5%-120°C	22	(25,01 ± 0,57) <sup>gh</sup>	(25,27 ± 1,35) <sup>hij</sup>
T10=GA-5%-120°C	30	(31,28 ± 1,05) <sup>fg</sup>	(42,95 ± 2,39) <sup>ef</sup>
T11=GA-10%-120°C	23	(20,31 ± 1,49) <sup>hi</sup>	(33,35 ± 2,97) <sup>fgh</sup>
T12=GA-15%-120°C	24	(23,32 ± 2,11) <sup>h</sup>	(39,11 ± 3,18) <sup>efg</sup>
T13=GA-2,5%-140°C	60	(65,49 ± 1,51) <sup>c</sup>	(63,37 ± 2,89) <sup>bc</sup>
T14=GA-5%-140°C	37	(37,85 ± 1,75) <sup>e</sup>	(46,45 ± 3,21) <sup>de</sup>
T15=GA-10%-140°C	46	(38,02 ± 2,82) <sup>e</sup>	(54,16 ± 3,91) <sup>cd</sup>
T16=GA-15%-140°C	53	(48,04 ± 4,36) <sup>d</sup>	(69,43 ± 5,17) <sup>ab</sup>

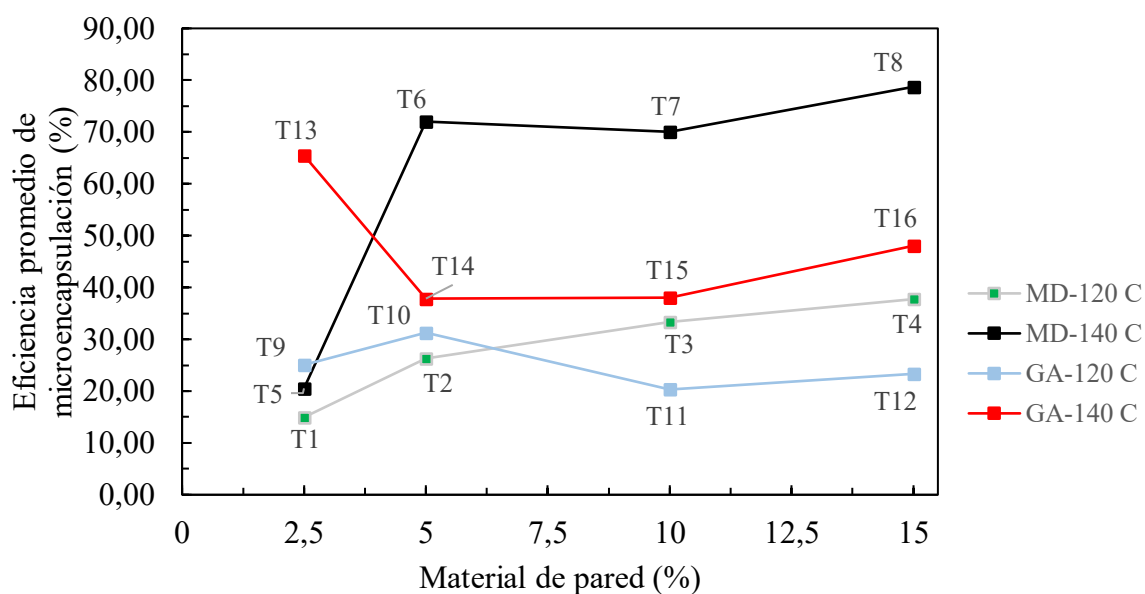
MD= maltodextrina DE10, GA= Goma arábica



**Figura 7.** Tratamientos del rendimiento del proceso de microencapsulación

Los resultados del rendimiento del proceso de la microencapsulación se muestran en la Tabla 2, estos varían de 12% al 63% y corresponden al tratamiento 1 (T1) y al tratamiento 6 (T6), respectivamente. También en la Figura 7 se ilustra el rendimiento de proceso de los tratamientos. Se puede observar que los mayores rendimientos son de T6 y T13 con 63 y 60%, respectivamente, Cheng et al. (2024) afirman que en la microencapsulación mediante secado por aspersión se puede aumentar el rendimiento de proceso a 65% utilizando hidroxipropilmetilcelulosa como un agente antiadherente evitando que el extracto de *Cornus fructus* (Cornalina) se pegue en la cámara de secado. Por otro lado, López Hernández et al. (2008) obtuvieron un rendimiento de 70% y 64% usando maltodextrina y almidón, respectivamente como encapsulante del extracto de *Boerhaavia erecta* L. (Hierba blanca), también López et al. (2009) durante el secado por aspersión de la pulpa de *Musa paradisiaca* (banano) reportaron un rendimiento de proceso de 67 %. Estas variaciones en el rendimiento de proceso pueden atribuirse a las diferencias en las propiedades fisicoquímicas de los agentes utilizados y de la matriz a secar, así como a los parámetros específicas del proceso de secado por aspersión.

Por otro lado, el tipo de material de pared (maltodextrina) utilizado en este trabajo para obtener la mayor eficiencia de microencapsulación de los compuestos bioactivos de la verbena también concuerda con el resultado de investigaciones anteriores, como el de Machado et al. (2022) quienes obtuvieron una mayor eficiencia de microencapsulación (67 %) de antocianinas de extracto de *Brassica oleracea* (col lombarda) utilizando como material de pared maltodextrina. Por su parte, Acosta-Vega et al. (2023) lograron una alta eficiencia de microencapsulación (71,09 %) de compuestos fenólicos de pulpa de *Theobroma grandiflorum* (cupuassu) utilizando como material de pared una mezcla de maltodextrina/inulina. También Zanoelo et al. (2024) obtuvieron un mayor rango de eficiencia de microencapsulación (66,54 a 70,16 %) de los compuestos bioactivos del extracto de *Ilex paraguariensis* A. (mate) tostado con maltodextrina.



**Figura 8.** Eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos

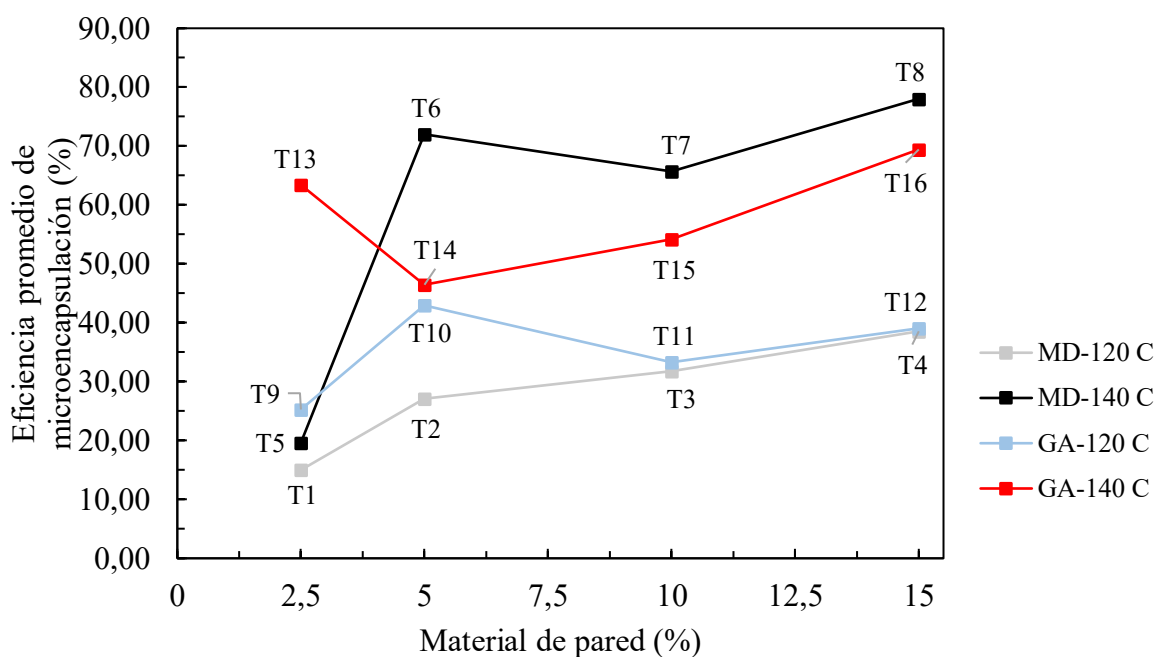
La Tabla 2 muestra la eficiencia promedio de microencapsulación en función de la conservación de los compuestos fenólicos del extracto acuoso, resultando más altos los tratamientos T6, T7, T8 y T13 (71,98; 70,09; 78,72 y 65,49%, respectivamente), en la Figura 8 se ilustra los tratamientos más altos, también se observa que la eficiencia de microencapsulación varía entre 14,95 y 78,72 % con diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, en la Figura 8 el comportamiento de las curvas muestra que utilizando mayor concentración de material de pared se aumenta la eficiencia de microencapsulación, dado que existe más material sólido para proteger la bioactividad, este comportamiento es más notorio para maltodextrina y fue reportado por Bergesse et al. (2023) quienes utilizaron maltodextrina como material de pared en concentraciones de 10%, 20% y 30%, resultando con mayor eficiencia de microencapsulación las microcápsulas con 30% de maltodextrina, esto también se debe a que cuanto mayor es la concentración del material de pared, las microcápsulas son más grandes y protegen mejor los compuestos bioactivos.

La temperatura del aire de secado también tiene efecto sobre la eficiencia de microencapsulación, para los dos tipos de materiales de pared el incremento de temperatura produce un aumento en la eficiencia de microencapsulación, siendo más significativo en maltodextrina. Este efecto se debe a que cuando el aire está más caliente tiene mayor poder para la evaporación del agua y la formación de las microcápsulas es más rápida, disminuyendo el tiempo de contacto con el aire caliente, sin embargo, la temperatura del aire de secado no debe ser muy alta para evitar la pérdida del poder bioactivo de las microcápsulas.

Los resultados de la eficiencia de microencapsulación de compuestos fenólicos (Tabla 3) concuerdan con los obtenidos por Insang et al. (2022) quienes trabajaron con una proporción de 1:2 (p/p) de maltodextrina y extracto de hoja de *Morus alba* L. (morera) y obtuvieron una eficiencia de microencapsulación de 70,28 % , también V da Rosa et al. (2019) utilizaron maltodextrina como agente encapsulante a una temperatura de 140 °C y obtuvieron la mejor retención de sus compuestos bioactivos con una variación en la eficiencia de microencapsulación entre sus tratamientos de 74,40 y 85,22%. Respecto a la temperatura del aire de secado por aspersion, con maltodextrina DE10 a 140 °C existe mayor eficiencia de microencapsulación comparado con 120 °C (Figura 8). Este comportamiento concuerda con la investigación de Tatasciore et al. (2024) quienes microencapsularon compuestos bioactivos del *Humulus lupulus* (lúpulo) a 120 °C y 150 °C, obteniendo mayor eficiencia de microencapsulación en compuestos fenólicos a 150 °C, este fenómeno también se debe a que al incrementar la temperatura del aire de secado la viscosidad de la solución en la cámara de secado disminuye, facilitando la dispersión homogénea de los compuestos bioactivos en la matriz encapsulante. Sin embargo, una temperatura muy alta también degradan los compuestos bioactivos, como lo demuestra Tolun et al. (2016) quienes para microencapsular compuestos bioactivos de *Vitis vinifera* (uva) utilizaron maltodextrina y goma arábica como material de pared y cuatro temperaturas de bulbo seco del aire de secado, 120, 140, 160 y 180 °C, resultando mayor cantidades de compuestos fenólicos a la temperatura de 140 °C en comparación con la temperatura de 120 °C, y demostraron que con una temperatura de 160 °C se degradan los compuestos fenólicos y a 180 °C se degradan mucho más.

En la Tabla 2 también se muestra la eficiencia promedio de microencapsulación de flavonoides resultando similar que, en los compuestos fenólicos totales, es decir, los rendimientos más altos fueron el T6, T7, T8 y T16, con 72,02; 65,65; 78,03 y 69,43 % respectivamente.

La eficiencia de microencapsulación de flavonoides de este trabajo es mayor a lo obtenido por Remígio et al. (2024) quienes microencapsularon mediante secado por aspersion el extracto acuoso de *Bauhinia unguolata* (Casco de venado) y reportaron una eficiencia de microencapsulación en fenoles y flavonoides de 35 y 57 %, respectivamente.

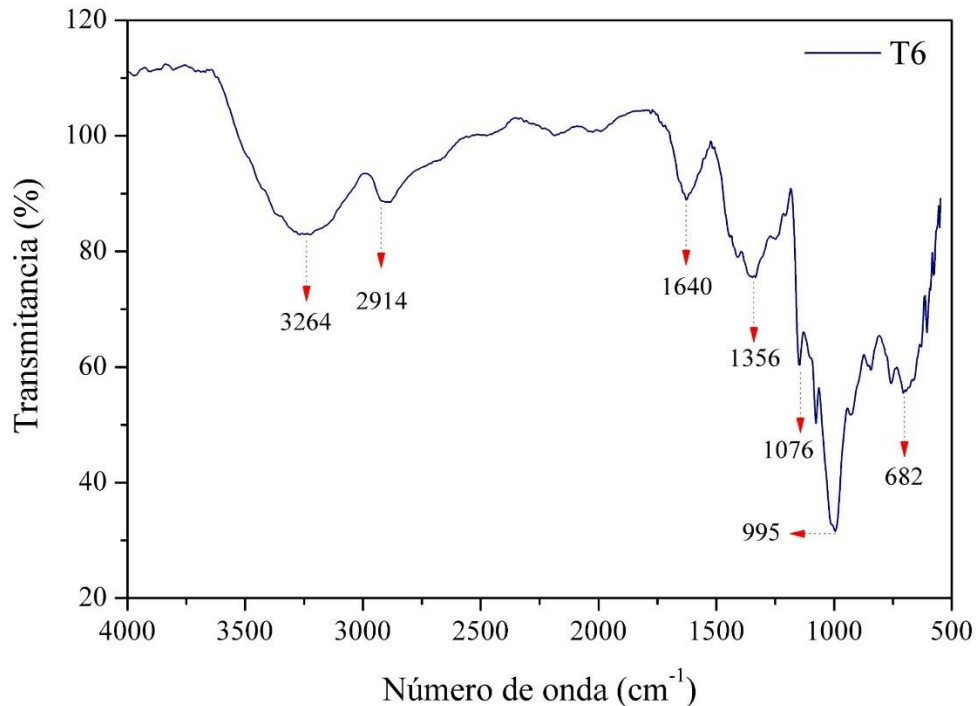


**Figura 9.** Eficiencia de microencapsulación de flavonoides

#### 4.3. Grupo funcional hidroxilo (OH) en las microcápsulas

El espectro del análisis por FTIR de las microcápsulas del mejor tratamiento (T6) se reporta en la Figura 10, los picos indican que las microcápsulas contiene compuestos de naturaleza compleja, resaltando picos de absorción más amplios en los números de onda de 682, 995, 1076, 1356, 1640, 2914 y 3264 $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a los enlaces de -C-N-C (grupo aromático), -C-O-H (ácido carboxílico), -C-N (amina alifática), -C-N (amina aromática), -C=C o -C=O (anillo aromático de fenoles o anillo de un flavonoide), -C-H (grupo alifático) y -O-H (grupo hidroxilo de fenoles), respectivamente. De esta manera se resalta la presencia de compuestos bioactivos en las microcápsulas por el reconocimiento de los enlaces químicos de los compuestos fenólicos provenientes del extracto acuoso de las hojas de *V. officinalis*, destacando la vibración del enlace -O-H del fenol y el enlace C=C del anillo aromático de los compuestos fenólicos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Sumaira et al. (2018), quienes identificaron en el extracto de *V. officinalis* un pico de absorción en 3240,26  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace -O-H de los compuestos fenólicos. También Sanchooli et al. (2018) identificaron en nanopartículas de extracto de *V. officinalis* un pico de 3422,64  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace químico -O-H de los fenoles. Asimismo, Dobrucka et al. (2021) identificaron en nanopartículas de *V. officinalis* picos de absorción importantes en 3273, 2107, 1635, 418, 385 y 383  $\text{cm}^{-1}$ , estos autores indicaron que el pico de 1635  $\text{cm}^{-1}$  representa

vibraciones del enlace C=O perteneciente al grupo de flavonoides, este pico es muy semejante al valor encontrado en este trabajo.

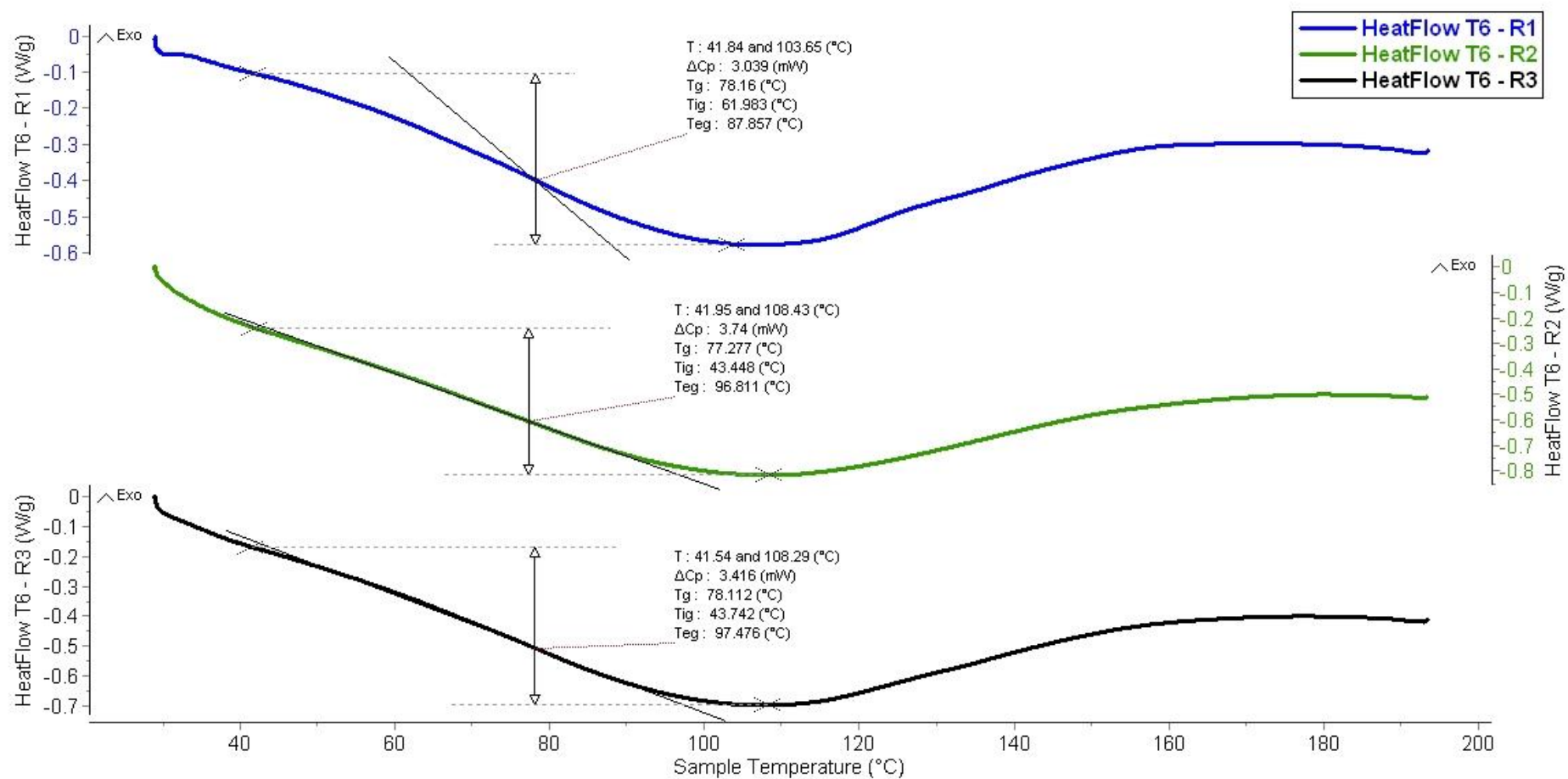


**Figura 10.** Espectro por FTIR de las microcápsulas del extracto acuoso de verbena

#### 4.4. Temperatura de transición vítrea (Tg) en las microcápsulas

En la Figura 11 se muestran las curvas del comportamiento térmico de las microcápsulas del mejor tratamiento (T6), cada curva representa una repetición del análisis. Con ello fue posible obtener la temperatura promedio de transición vítrea (Tg) de las microcápsulas, siendo  $77,85 \pm 0,5$  °C. La Tg es la temperatura a la cual un material amorfo (sin estructura cristalina) pasa de un estado rígido y vítreo a un estado más flexible y gomoso, en las microcápsulas es importante conocer el valor Tg para predecir su comportamiento durante el almacenamiento. En la curva de comportamiento térmico el eje de las ordenadas muestra la variación del flujo de calor y en el eje de las abscisas representa la temperatura. La temperatura de transición vítrea se determina por el punto medio de la inflexión en la primera pendiente de la curva, en ese punto la capacidad calorífica del material cambia al pasar del estado vítreo al gomoso. Can Karaca (2020) al microencapsular mediante secado por aspersión aceite de semilla de *Piper nigrum* L. (pimienta negra) con maltodextrina y temperatura de 140 °C reportó una

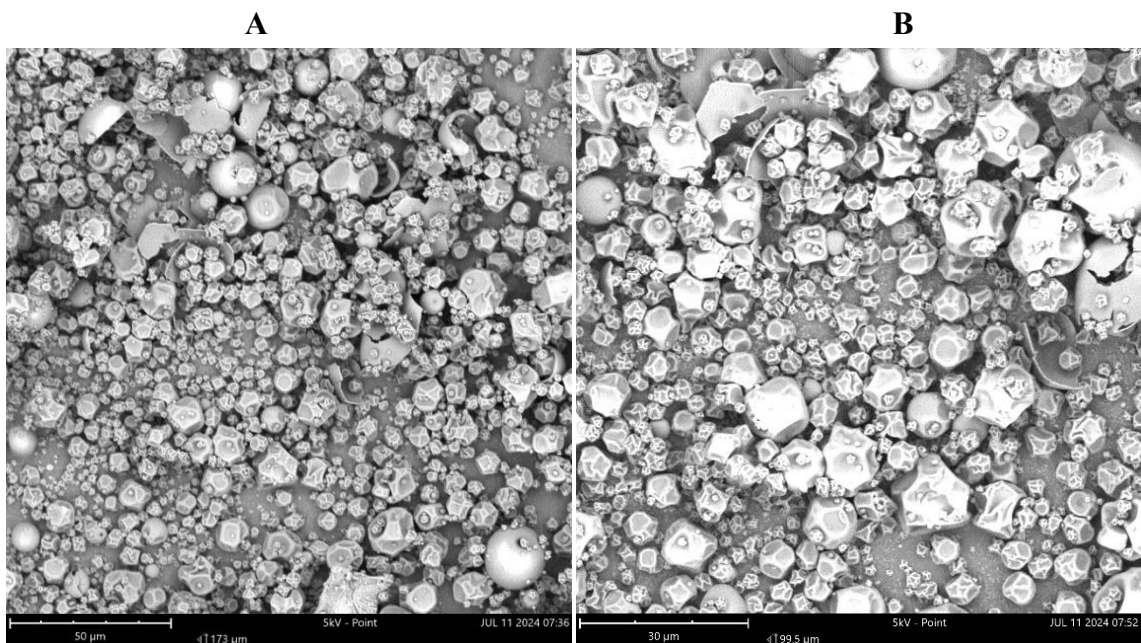
Tg de 99 °C, este valor es superior a la Tg de las microcápsulas de verbena, la variación se debe a los diferentes valores de las variables del proceso utilizado en la conservación de los compuestos bioactivos por microencapsulación mediante secado por aspersión, pues, además del agua, los compuestos como polifenoles y otros antioxidantes pueden actuar como plastificantes, disminuyendo la Tg. Por otro lado, el método de encapsulación también influye en los valores de Tg, debido a que las microcápsulas difieren en el valor de la actividad de agua según su método de producción, por ejemplo, Sharayei et al. (2020) encapsularon mediante liofilización el extracto acuoso de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Punica granatum* L. (granada) usando maltodextrina, las microcápsulas presentaron Tg de 69,73 °C, este resultado es inferior a la Tg encontrado en esta investigación. En consecuencia, las microcápsulas producidas mediante secado por atomización tendrán mayor estabilidad durante el almacenamiento comparado a las microcápsulas producidas por liofilización.



**Figura 11.** Calorimetría diferencia de barrido (DSC) de las microcápsulas

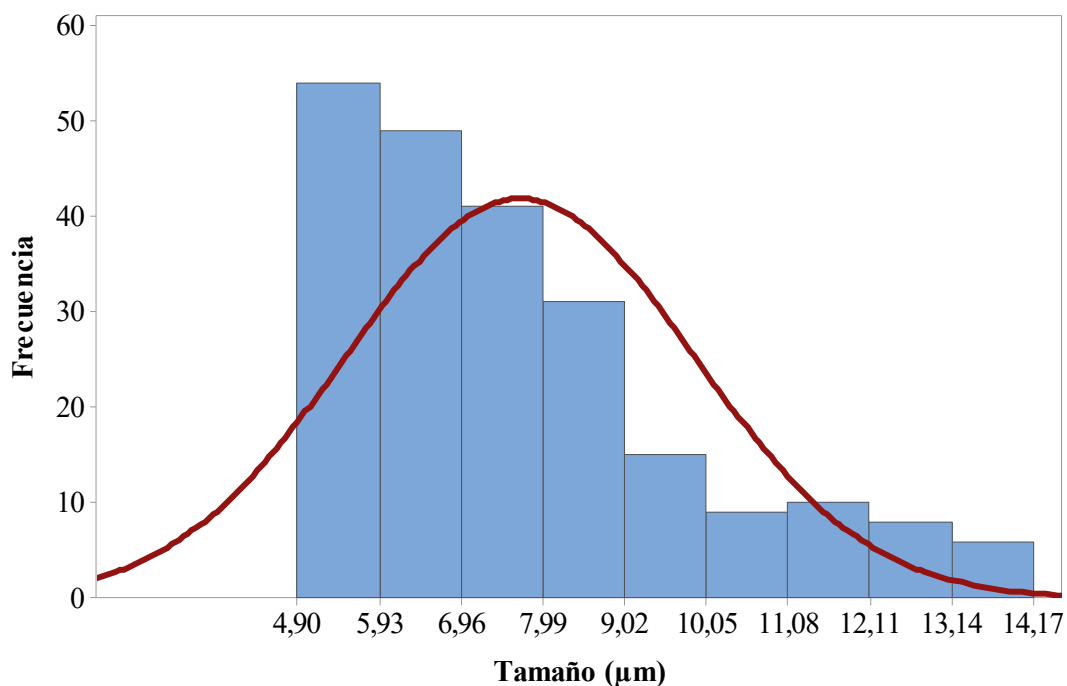
#### 4.5. Morfología, tamaño promedio y distribución de tamaño de las microcápsulas

La distribución de tamaño evidencia las dimensiones de un número significativo de microcápsulas, y se expresa mediante un histograma de frecuencia para los diferentes tamaños de microcápsulas en un determinado intervalo de diámetros. Las micrografías con diferentes aumentos, a 1550x (A) y 2700x (B) obtenidos de las microcápsulas de verbena se muestran en la Figura 12, las imágenes muestran la morfología de las microcápsulas, destacando en menor proporción la forma esférica lisa y en mayor proporción la forma esférica rugosa con hendiduras idénticas a un “balón desinflado”, la presencia de la forma esférica rugosa de estas microcápsulas se debe al violento cambio de presión de vapor del agua durante el cambio de fase de líquido a vapor, esto genera una rápida pérdida de agua durante el secado por aspersión, morfología similar fue encontrado por Zhang et al. (2020), quienes microencapsularon mediante secado por aspersión antocianinas extraídas de la cáscara *Vitis vinifera* L. (uva), y obtuvieron microcápsulas con morfología esférica lisa y esférica rugosa con hendiduras. De igual manera por el método de secado por aspersión Zanoni et al. (2020) microencapsularon polifenoles extraídos de *Cichorium intybus* L. (achicoria roja) y *Brassica oleracea* L. (col lombarda) reportando microcápsulas con morfología esférica rugosa con hendiduras. Utilizando diferente material de pared en la producción de microcápsulas mediante secado por aspersión Delia et al. (2019) también obtuvieron microcápsulas esféricas rugosas con hendiduras durante la microencapsulación de extractos de betalaína de *Escontria chiotilla* (jiotilla) y *Stenocereus queretaroensis* (Pitahaya) utilizando mucílago de cactus.



**Figura 12.** Micrografías de las microcápsulas de verbena

En la Figura 13 se muestra la distribución de tamaño de las microcápsulas, el cual obedece a un histograma con distribución normal, el tamaño promedio de las microcápsulas es de  $7,69 \pm 2,19 \mu\text{m}$ , también se observa que la mayoría de las microcápsulas presentan un tamaño que varía de 4,90 a 7,99  $\mu\text{m}$ , eso demuestra que las cápsulas producidas en este trabajo están a la escala de microcápsulas, como menciona Calderón y Ponce (2022) las microcápsulas suelen tener un diámetro en el rango de 0,2 y 5000  $\mu\text{m}$ . En la literatura los autores reportan diámetros similares, Millinia et al. (2024) microencapsularon mediante secado por aspersion las antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. (Jamaica) usando como material de pared maltodextrina y reportaron un tamaño promedio de 5,62  $\mu\text{m}$ , este valor está dentro del intervalo de tamaño con mayor porcentaje de frecuencia en las microcápsulas obtenidas en esta investigación. Castejón et al. (2021) microencapsularon mediante secado por aspersion omega-3 de semillas oleaginosas y microalgas utilizando caseinato de sodio como material de pared, se obtuvieron microcápsulas con tamaño promedio de 4,2  $\mu\text{m}$ . Por otro lado, el uso de una mayor concentración de maltodextrina como material de pared posibilita mayor viscosidad de la suspensión de alimentación, el cual genera microcápsulas de mayor tamaño, esto es evidenciado en el trabajo de Guo et al. (2020), quienes microencapsularon mediante secado por aspersion curcumina de *Curcuma longa* L. (cúrcuma) con maltodextrina en una proporción mayor del 5 %, reportando que la mayoría de las microcápsulas fueron de 10  $\mu\text{m}$ .



**Figura 13.** Curva de distribución de tamaño de las microcápsulas

#### 4.6. Vida útil de las microcápsulas en función de la bioactividad

La vida útil de las microcápsulas fue considerada en el momento en que la concentración de la bioactividad alcanza el 35% de su concentración inicial, cuando las microcápsulas tienen concentraciones menores al 35% de la carga bioactiva inicial son consideradas microcápsulas con baja bioactividad. El valor del parámetro SAL de los modelos representa la vida útil (días) de las microcápsulas.

En la Tabla 3 se muestra la estimación de la vida útil (SAL) durante el almacenamiento de las microcápsulas del mejor tratamiento (tratamiento T6), la vida útil está en función de la concentración de los compuestos fenólicos con validación experimental y las concentraciones predecidas con los modelos de Weibull y Gammariello, el promedio general del error relativo es 2,07% y 2,12%, respectivamente. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para ambos modelos fue de 0,992, este valor es cercano a la unidad e indica que los dos modelos predicen adecuadamente la concentración de compuestos fenólicos durante su almacenamiento a 72% de humedad relativa y 30 °C, la vida útil en función de los compuestos fenólicos mediante los modelos de Weibull y Gammariello es de 31,86 y 33,32 días, respectivamente. Esto indica que el material de pared protege los compuestos fenólicos contenidos en las microcápsulas durante aproximadamente 32 días de almacenamiento. En la Figura 14 se observa el perfil del comportamiento de los datos experimentales y modelados de concentración de compuestos fenólicos, mediante los modelos de Weibull y Gammariello es posible predecir la concentración de compuestos fenólicos con una precisión de 0,26% hasta 4,68% y de 0,22% hasta 4,28%, respectivamente.

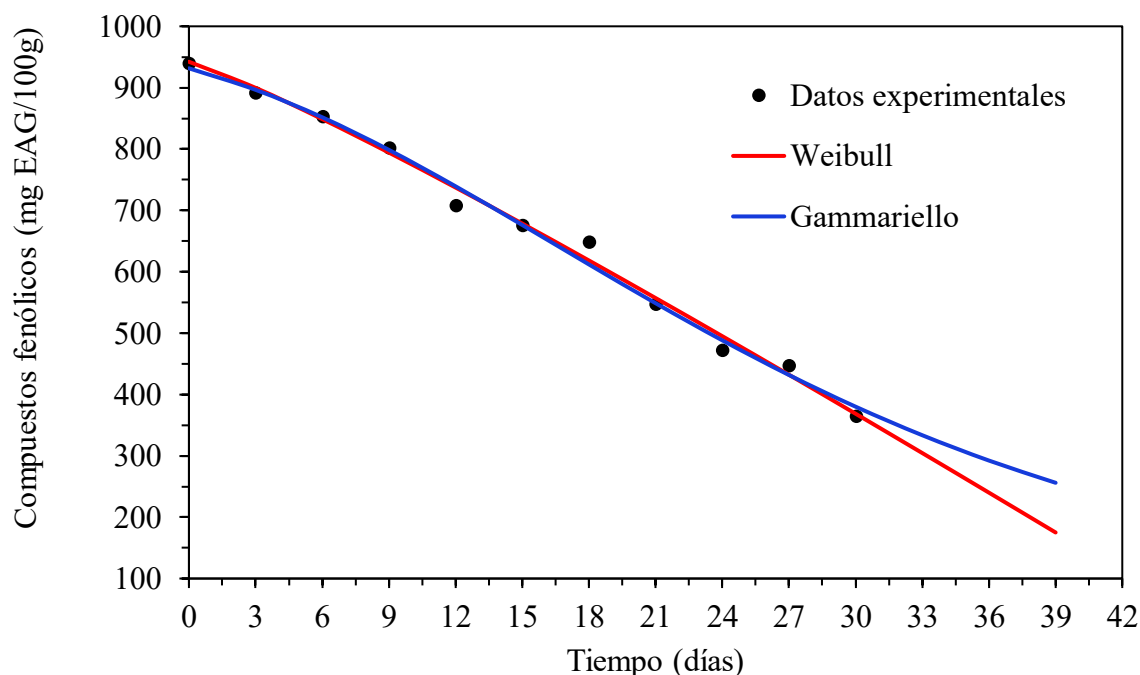
En las etapas iniciales del almacenamiento los dos modelos presentan similar predicción, en los tiempos finales de almacenamiento existe ligera divergencia, lo que se traduce en una pequeña diferencia en la vida útil estimada, de aproximadamente un día, la Figura 14 también proporciona una perspectiva sobre la naturaleza no lineal de la cinética de la degradación de los compuestos fenólicos, lo que justifica la aplicación de estos modelos complejos no lineales capaces de predecir la dinámica de la degradación bioactiva en microcápsulas.

**Tabla 3.** Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para compuestos fenólicos

Tiempo (días)	Experimental compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	Modelo Weibull		Modelado compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general del error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	939,8	SAL	31,86	942,22	0,26	
3	892,6	$K_2$	12129,92	899,72	0,80	
6	853,6	$\alpha$	1,14	848,76	0,57	2,07
9	802,4	$\beta$	426,99	794,19	1,02	
12	708,9	$OSQ_{min}$	328,93	737,22	3,99	
15	675,8	-	-	678,49	0,40	
18	649,5	-	-	618,38	4,79	
21	547,5	-	-	557,16	1,76	
24	472,9	-	-	495,03	4,68	0,992
27	448,1	-	-	432,13	3,56	
30	365,1	-	-	368,60	0,96	

Tiempo (días)	Experimentales compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	Modelo Gammariello		Modelado compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	939,8	$OSQ_{min}$	328,93	931,59	0,87	
3	892,6	$A_Q$	939,8	896,50	0,44	
6	853,6	SAL	33,32	851,73	0,22	2,12
9	802,4	$\theta_Q$	0,39	798,60	0,47	
12	708,9	$\mu_{max}$	21,45	739,24	4,28	
15	675,8	-	-	676,18	0,06	
18	649,5	-	-	611,93	5,78	
21	547,5	-	-	548,69	0,22	
24	472,9	-	-	488,22	3,24	0,992
27	448,1	-	-	431,76	3,65	
30	365,1	-	-	380,09	4,11	



**Figura 14.** Modelo de Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de compuestos fenólicos

En la Tabla 4 se presenta la estimación de la vida útil (SAL) durante el almacenamiento de las microcápsulas correspondientes al tratamiento óptimo (T6), en esta evaluación la vida útil está en función de la concentración de flavonoides totales, empleando tanto la validación experimental como las predicciones de los modelos de Weibull y Gammariello. El error relativo promedio es 2,03% y 5,51%, respectivamente. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para ambos modelos fue de 0,996 y 0,980, valores próximos a la unidad que corroboran la utilidad de ambos modelos para predecir el comportamiento de la concentración de flavonoides totales durante el periodo de almacenamiento a una humedad relativa del 72% y una temperatura de 30 °C. La vida útil estimada en función de la concentración de flavonoides totales, mediante la aplicación de los modelos de Weibull y Gammariello es 24,83 y 25,26 días, respectivamente, este valor sugiere que el material de la pared de las microcápsulas confiere protección a los flavonoides totales microencapsulados durante un tiempo estimado de 25 días de almacenamiento. La vida útil es inferior para los flavonoides totales en comparación con los compuestos fenólicos (Tabla 3), se justifica por su naturaleza constitutiva, ya que los flavonoides representan una subestructura dentro del universo más amplio de los compuestos fenólicos, esto se debe a que los flavonoides totales presentes en las microcápsulas de verbena

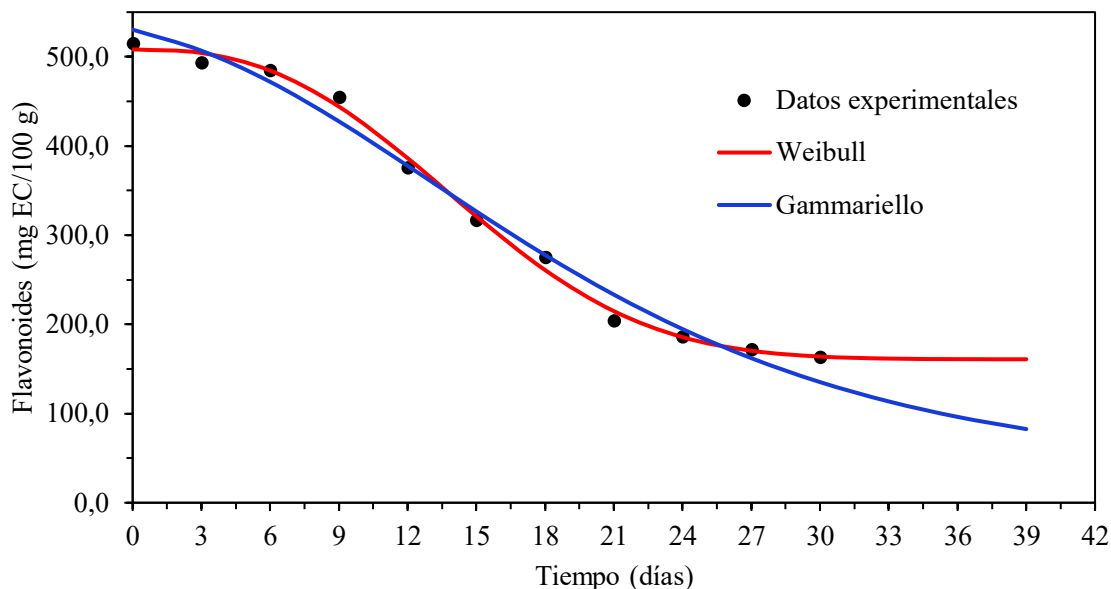
son menos estables que otros tipos de compuestos fenólicos también presentes, lo que lleva a una degradación más rápida y, por lo tanto, a una vida útil más corta basada en su concentración. La Figura 15 ilustra el perfil comparativo entre los datos experimentales y los valores modelados de la concentración de flavonoides totales. A través de los modelos de Weibull y Gammariello, se logra predecir la concentración de flavonoides totales con una precisión que oscila entre el 0,15% y el 5,42%, y entre el 0,150% y el 14,14%, respectivamente. La figura evidencia una fuerte correlación entre los datos experimentales y los estimados por los modelos de Weibull y Gammariello. Esta congruencia significativa resalta la validez de los modelos matemáticos seleccionados para predecir el comportamiento de la concentración de los flavonoides totales durante el almacenamiento de las microcápsulas. Si bien se observa una ligera divergencia en las etapas finales del almacenamiento, los coeficientes de determinación de los modelos de Weibull y Gammariello cercanos a la unidad, errores relativos bajos y además el comportamiento no lineal de los datos, respaldan la utilidad de ambos modelos para la predicción de la vida útil en de las microcápsulas de verbena en función de los flavonoides totales durante su almacenamiento.

**Tabla 4.** Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para flavonoides totales

Tiempo (días)	Experimental flavonoides totales (mg EC/100 g)	Modelo Weibull		Modelado flavonoides totales (mg EC/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	515	<i>SAL</i>	24,83	508,26	1,31	
3	493,8	<i>K</i> <sub>2</sub>	347,46	504,26	2,12	
6	485,2	$\alpha$	2,61	484,52	0,14	2,03
9	455,3	$\beta$	16,55	444,16	2,45	
12	375,9	<i>OSQ</i> <sub>min</sub>	180,25	386,35	2,78	
15	317,2	-	-	321,10	1,23	
18	275,8	-	-	260,84	5,42	
21	204,4	-	-	214,80	5,09	
24	186,2	-	-	185,64	0,30	0,996
27	172,5	-	-	170,41	1,21	
30	163,4	-	-	163,89	0,30	

Tiempo (días)	Experimental flavonoides totales (mg EC/100 g)	Modelo Gammariello		Modelado flavonoides totales (mg EC/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	515	<i>OSQ</i> <sub>min</sub>	180,25	530,38	2,99	
3	493,8	<i>A</i> <sub>Q</sub>	515,00	506,82	2,64	
6	485,2	<i>SAL</i>	25,26	471,89	2,74	5,51
9	455,3	$\theta$ <sub>Q</sub>	1,89	427,60	6,08	
12	375,9	$\mu$ <sub>max</sub>	17,12	377,77	0,50	
15	317,2	-	-	326,62	2,97	
18	275,8	-	-	277,68	0,68	
21	204,4	-	-	233,30	14,14	
24	186,2	-	-	194,67	4,55	0,980
27	172,5	-	-	162,08	6,04	
30	163,4	-	-	135,24	17,23	



**Figura 15.** Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de flavonoides totales

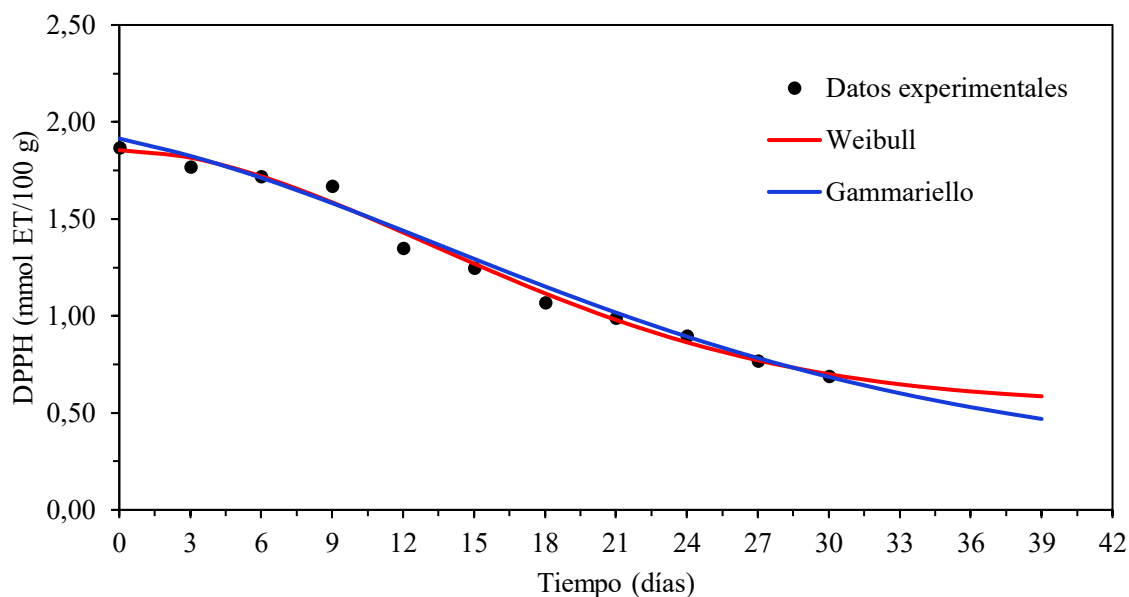
En la Tabla 5 se muestra la estimación de la vida útil (SAL) durante el almacenamiento de las microcápsulas del mejor tratamiento (T6) en función de la capacidad antioxidante evaluada por la captura del radical libre DPPH. Se emplearon tanto los datos experimentales como los estimados por los modelos de Weibull y Gammariello, el error relativo promedio es 2,90% y 3,12%, respectivamente. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido para ambos modelos fue de 0,990 y 0,988, valores cercanos a la unidad que evidencian la capacidad predictiva adecuada de ambos modelos para describir el comportamiento de la pérdida de la capacidad antioxidante (DPPH) durante el almacenamiento de las microcápsulas de verbena. La vida útil obtenida a través de los modelos de Weibull y Gammariello para esta evaluación bioactiva es 32,54 y 31,05 días, respectivamente, este tiempo proporciona una evidencia sólida que corrobora la eficacia del material de pared en la conservación de esta funcionalidad bioactiva de las micropartículas. Este rango de vida útil centrado en aproximadamente 32 días, concuerda con el periodo de protección inferido a los compuestos fenólicos (32 días), esta similitud refuerza significativamente la validez y robustez de los modelos aplicados en esta investigación. Esta semejanza en el valor de la vida útil sugiere que la integridad de los compuestos fenólicos, responsables en gran medida de la actividad antioxidante, se conserva de forma paralela a la capacidad de atrapar los radicales libres DPPH.

La concordancia del valor de la vida útil estimada basada en dos variables respuesta de bioactividad (concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante DPPH) valida la utilidad para estimar la vida útil de las microcápsulas de verbena en función de la bioactividad mediante los modelos de Weibull y Gammariello.

Mediante los modelos de Weibull y Gammariello, se logró predecir la capacidad antioxidante DPPH con una precisión de 0,01% hasta 5,94%, y de 0,19% hasta 7,69%, respectivamente, la Figura 16 ilustra la dinámica de la capacidad antioxidante (DPPH) de las microcápsulas durante el almacenamiento, donde las curvas generadas por los modelos de Weibull y Gammariello demuestran una notable capacidad para estimar la trayectoria de los datos experimentales. Esta concordancia inicial y sostenida a lo largo del periodo de almacenamiento evaluado resalta la validez de ambos modelos para describir la cinética de la pérdida de actividad antioxidante. La suave pendiente descendente de las curvas modeladas refleja una protección efectiva en la capacidad antioxidante (DPPH) por parte del material de pared de las microcápsulas, retardando significativamente su degradación bajo las condiciones de almacenamiento estudiadas. Si bien existen ligeras variaciones en la precisión predictiva a lo largo del tiempo, los errores bajos, los coeficientes de determinación cercanos a la unidad y la capacidad de los modelos de Weibull y Gammariello para capturar la naturaleza no lineal de la disminución de la capacidad antioxidante (DPPH) confiere una credibilidad a las estimaciones de vida útil de las microcápsulas durante su almacenamiento, demostrando la utilidad de estos modelos como herramientas predictivas fiables para evaluar el comportamiento de la capacidad antioxidante (DPPH) en las microcápsulas de verbena durante su almacenamiento.

**Tabla 5.** Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para DPPH

Tiempo (días)	Experimental DPPH (mmol ET/100 g)	Modelo Weibull		Modelado DPPH (mmol ET/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	1,87	<i>SAL</i>	32,54	1,85	0,82	2,90
3	1,77	<i>K<sub>2</sub></i>	1,31	1,82	2,59	
6	1,72	$\alpha$	1,85	1,72	0,01	
9	1,67	$\beta$	19,92	1,59	5,06	
12	1,35	<i>OSQ<sub>min</sub></i>	0,65	1,43	5,94	
15	1,25	-	-	1,27	1,57	
18	1,07	-	-	1,12	4,34	
21	0,99	-	-	0,98	1,05	
24	0,9	-	-	0,86	4,00	
27	0,77	-	-	0,77	0,15	
30	0,69	-	-	0,70	1,44	
Tiempo (días)	Experimental DPPH (mmol ET/100 g)	Modelo Gammariello		Modelado DPPH (mmol ET/100 g)	error relativo %	
		parámetros				
0	1,87	<i>OSQ<sub>min</sub></i>	0,65	1,91	2,32	0,988
3	1,77	<i>A<sub>Q</sub></i>	1,87	1,82	3,30	
6	1,72	<i>SAL</i>	31,05	1,71	0,19	
9	1,67	$\theta_Q$	0,64	1,58	5,13	
12	1,35	$\mu_{max}$	0,05	1,44	6,42	
15	1,25	-	-	1,29	3,43	
18	1,07	-	-	1,15	7,69	
21	0,99	-	-	1,02	3,00	
24	0,9	-	-	0,89	0,44	
27	0,77	-	-	0,78	1,26	
30	0,69	-	-	0,69	1,17	



**Figura 16.** Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de DPPH

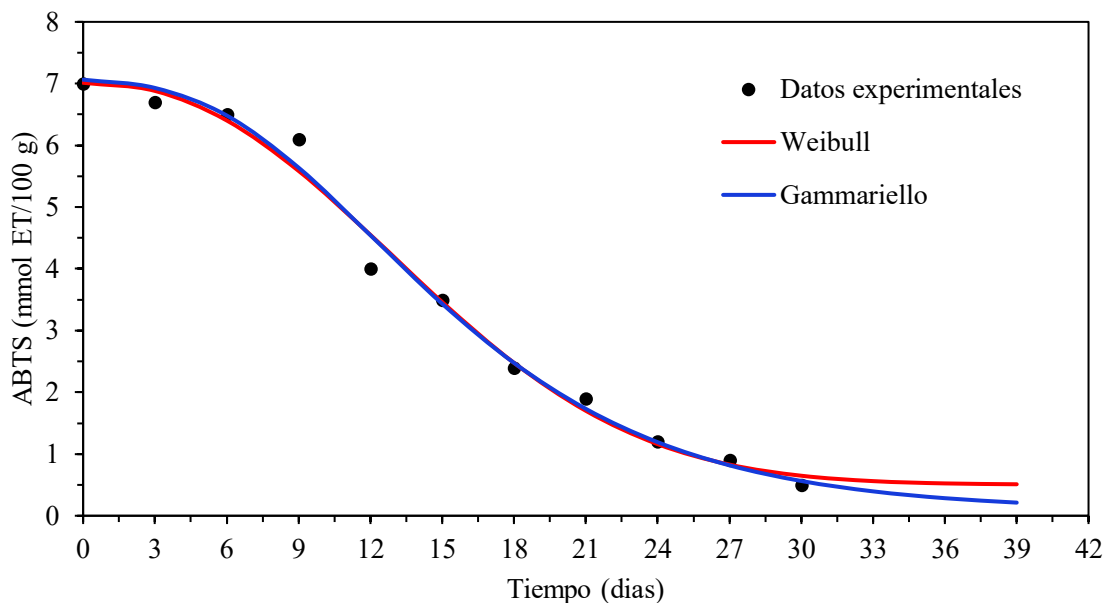
En la Tabla 6 se presenta la estimación de la vida útil (SAL) durante el almacenamiento de las microcápsulas del tratamiento óptimo (T6). El error relativo promedio asociado los datos predecidos por los modelos de Weibull y Gammariello es 7,48% y 5,66%, respectivamente. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido para ambos modelos es de 0,990, este valor es cercano a la unidad e indica que los dos modelos predicen adecuadamente la capacidad antioxidante (ABTS) durante su almacenamiento. La vida útil estimada por los modelos en función de la capacidad antioxidante (ABTS) es de 18 días aproximadamente, esto demuestra la protección del material de pared de las microcápsulas. La menor vida útil estimada basada en la capacidad antioxidante por la captura del radical libre ABTS en comparación con DPPH sugiere que los antioxidantes predominantes en las microcápsulas son más reactivos con la neutralización del radical libre DPPH (a través de la donación de hidrógeno) que con el radical libre ABTS (a través de la transferencia de electrones o donación de hidrógeno). La Figura 17 muestra que los modelos de Weibull y Gammariello, capturan la tendencia de disminución de la capacidad antioxidante (ABTS) con el tiempo, aunque con ligeras variaciones en su ajuste a los datos experimentales. A pesar de la ligera variabilidad, demuestran una capacidad para modelar la cinética general de la pérdida de capacidad antioxidante (ABTS) durante el almacenamiento de las microcápsulas de verbena.

**Tabla 6.** Datos experimentales, predecidos y parámetros del modelo de Weibull y Gammariello para ABTS

Tiempo (días)	Experimental ABTS (mmol ET/100 g)	Modelo Weibull		Modelado ABTS (mmol ET/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	7,0	<i>SAL</i>	18,09	7,01	0,19	
3	6,7	<i>K</i> <sub>2</sub>	6,51	6,88	2,71	
6	6,5	$\alpha$	2,27	6,40	1,51	7,48
9	6,1	$\beta$	16,65	5,59	8,42	
12	4,0	<i>OSQ</i> <sub>min</sub>	2,45	4,55	13,75	
15	3,5	-	-	3,46	1,13	
18	2,4	-	-	2,48	3,19	
21	1,9	-	-	1,70	10,52	
24	1,2	-	-	1,16	3,31	0,990
27	0,9	-	-	0,83	7,94	
30	0,5	-	-	0,65	29,61	

Tiempo (días)	Experimental ABTS (mmol ET/100 g)	Modelo Gammariello		Modelado ABTS (mmol ET/100 g)	Error relativo (%)	Promedio general de error relativo (%) /R <sup>2</sup>
		Parámetros				
0	7,0	<i>OSQ</i> <sub>min</sub>	2,45	7,06	0,91	
3	6,7	<i>A</i> <sub>Q</sub>	7,00	6,93	3,42	
6	6,5	<i>SAL</i>	18,09	6,48	0,26	5,66
9	6,1	$\theta$ <sub>Q</sub>	5,32	5,64	7,56	
12	4,0	$\mu$ <sub>max</sub>	0,38	4,54	13,58	
15	3,5	-	-	3,43	1,91	
18	2,4	-	-	2,48	3,15	
21	1,9	-	-	1,73	8,86	
24	1,2	-	-	1,19	0,69	0,990
27	0,9	-	-	0,82	9,28	
30	0,5	-	-	0,56	12,60	



**Figura 17.** Modelo Weibull y Gammariello para la vida útil de microcápsulas en función de ABTS

Los resultados demuestran la efectividad del material de pared para proteger los compuestos bioactivos de las microcápsulas de verbena durante un periodo aproximado de 18 a 32 días de almacenamiento, dependiendo de la bioactividad evaluada. En general los dos modelos, de Weibull y Gammariello se ajustan a los datos experimentales de bioactividad durante el almacenamiento de las microcápsulas obtenidas del extracto acuoso de verbena mediante el método de secado por aspersión, y hacen posible la estimación de su vida útil. Esto es especialmente relevante considerando que la estabilidad y la vida útil son factores críticos en la viabilidad comercial de productos microencapsulados. Las curvas sigmoides invertidas obtenidas son características de procesos de degradación y liberación controlada, lo cual sugiere que estos modelos pueden proporcionar una representación realista del comportamiento de las microcápsulas a lo largo del tiempo.

Analizando la cantidad de parámetros de ambos modelos, el modelo de Weibull tiene cinco parámetros, de los cuales, dos tienen sentido físico ( $SAL$  y  $OSQ_{min}$ ), y los otros tres son parámetros de ajuste ( $K_2$ ,  $\alpha$  y  $\beta$ ), el modelo de Gammariello tiene cinco parámetros, de los cuales, cuatro tienen sentido físico ( $SAL$ ,  $A_0$ ,  $\theta_Q$  y  $OSQ_{min}$ ), y solo  $\mu_{max}$  es un parámetro de ajuste. En términos de costo computacional, el modelo de Gammariello es más ventajoso, pues

es posible proporcionar cuatro valores cercanos de los cinco parámetros necesarios. Por otro lado, el modelo de Gammariello explica mejor el fenómeno de la cinética de degradación de la bioactividad de las microcápsulas, pues como se observa en las Figuras 14, 15, 16 y 17 el modelo de Weibull presenta una asíntota que indica que la bioactividad de las microcápsulas no llegan a ser cero, sin embargo, eso no sucede en la práctica.

#### **4.7. Digestión simulada gastrointestinal *in vitro* de las microcápsulas**

Los resultados de la digestión gastrointestinal *in vitro* de las microcápsulas del extracto de verbena obtenidas mediante secado por aspersión con 5 % de maltodextrina DE10 a 140 °C se muestran en la Tabla 7. después de abordar la fase salivaria, fase gástrica y la fase intestinal se obtuvo una eficiencia promedio de protección en compuestos fenólicos, flavonoides totales, capacidad antioxidante DPPH y ABTS de 72,38 %, 84,03 %, 60,33 %, 77,86 % respectivamente. La eficiencia promedio de protección obtenida refleja las características diferenciales de los compuestos bioactivos frente a las condiciones extremas de cada fase en la digestión y la capacidad de la maltodextrina DE10 como agente encapsulante para protegerlos, demostrando así que desde 60,33 % está disponible los compuestos bioactivos de la microcápsula en el intestino para ser absorbido por el organismo del consumidor. Además, se observa que los flavonoides totales tienen mayor eficiencia de protección frente a los compuestos fenólicos, esto se debe a la sensibilidad de los compuestos fenólicos a los cambios de pH y las enzimas digestivas presentes en el sistema gastrointestinal, durante la fase gástrica, el ambiente ácido puede inducir la descomposición o transformación parcial de ciertos compuestos fenólicos en formas menos estables. Asimismo, en la fase intestinal, el pH alcalino y la acción de las enzimas pancreáticas pueden generar una disminución adicional. Por otra parte, los flavonoides son más resistente frente a las condiciones de pH ácido y alcalino, lo que les permite conservar su integridad a lo largo de la digestión. La razón de la mayor protección en flavonoides puede atribuirse a que en su estructura química los flavonoides poseen anillos aromáticos con grupos hidroxilos que son más resistentes a las condiciones extremas del tracto gastrointestinal en comparación con otros compuestos fenólicos y también puede deberse a la interacción y compatibilidad con la maltodextrina formando una matriz protectora que encapsula eficazmente los flavonoides, reduciendo su exposición a condiciones adversas como la acidez del estómago y la acción de enzimas digestivas. Este resultado indica que los flavonoides son más susceptibles de ser protegidos mediante el proceso de microencapsulación y secado por aspersión.

La capacidad antioxidante medida mediante el ensayo DPPH es la más baja entre los parámetros evaluados. Esto se debe a que este método evalúa específicamente la capacidad de los compuestos para neutralizar radicales libres en un entorno químico diferente al fisiológico. Durante la digestión, algunos compuestos antioxidantes pueden ser degradados o modificados, reduciendo su eficacia como neutralizadores de radicales libres en este ensayo. Por otro lado, la capacidad antioxidante medida mediante el ensayo ABTS presenta una eficiencia de protección más alta que la de DPPH. Esto se debe a que este método mide la capacidad antioxidante en un rango más amplio de compuestos bioactivos, incluidos los que permanecen activos después de la digestión. La técnica de microencapsulación con maltodextrina parece ser más efectiva para proteger aquellos compuestos que contribuyen a la neutralización de radicales ABTS, posiblemente por su mejor preservación frente a las condiciones gastrointestinales.

En general, estos resultados destacan la eficacia del proceso de secado por aspersión y el uso de maltodextrina para preservar los compuestos bioactivos durante la digestión gastrointestinal *in vitro*, aunque los resultados varían dependiendo de las propiedades químicas y la estabilidad de cada tipo de compuesto, pero tenemos una protección alta variando desde 60,33 % en capacidad antioxidante DPPH hasta flavonoides totales de 84,03%.

**Tabla 7.** Eficiencia promedia de protección de la bioactividad durante la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Bioactividad	T6=MD-140 °C -5%		Eficiencia promedia de protección (%)
	Microcápsulas	Después de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	
Compuestos fenólicos	900,87 mg EAG/100 g	652,01 mg EAG/100 g	72,38
Flavonoides totales	478,99 mg EC/100 g	402,48 mg EC/100 g	84,03
DPPH	1,569 mmol ET/100 g	0,946 mmol ET/100 g	60,33
ABTS	6,667 mmol ET/100 g	5,191 mmol ET/100 g	77,86

La eficiencia de protección de compuestos fenólicos después de abordar la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*, concuerda con Silva et al. (2024) quienes microencapsulación compuestos fenólicos de cáscara de *Coffea arábica* (café) orgánico mediante el método de secado por aspersión utilizando como material de pared maltodextrina,

y después de realizar la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* obtuvieron valores que oscilaron entre 70,3 y 94,3 %. Por su parte Rodrigues et al. (2021) en su investigación sobre la microencapsulación de los compuestos bioactivos del extracto de *Camellia sinensis* (té verde) demostraron que después de la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* protege de los compuestos fenólicos y se incrementa la capacidad antioxidante ABTS, aumentando la biodisponibilidad de estos compuestos en el intestino delgado. También Čujić Nikolić et al. (2023) microencapsularon extracto de *Zea mays* (maíz) mediante secado por aspersión, luego de realizar la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* reportaron una protección de 73,63 % en compuestos fenólicos, a diferencia de Yeasmen y Orsat (2024) quienes obtuvieron resultados un poco menores en microcápsulas de extracto de hojas de *Acer saccharum* (arce azucarero) con material de pared maltodextrina y goma arábica resultando una protección en el rango de 43,34 a 49,30 %, en compuestos fenólicos.

## V. CONCLUSIONES

- La extracción de los compuestos bioactivos del extracto acuoso de verbena mediante ondas acústicas resultó una técnica eficiente presentando  $1453,39 \pm 31,98$  mg EAG/100 g en compuestos fenólicos y  $442,08 \pm 12,34$  mg EC./100 g en flavonoides totales.
- La temperatura de bulbo seco del aire a  $140\text{ }^{\circ}\text{C}$  y 5% de maltodextrina DE10 como agente encapsulante son los más adecuados para producir microcápsulas mediante secado por aspersión del extracto acuoso de verbena, cuyo rendimiento máximo de proceso es de 63%, con una eficiencia de microencapsulación en compuestos fenólicos y en flavonoides totales de 71,98% y 72,02% respectivamente.
- El espectro FTIR de las microcápsulas del mejor tratamiento mostró un pico en  $3264\text{ cm}^{-1}$  siendo esta característica la vibración del enlace químico -O-H de los compuestos fenólicos y un pico en  $1640\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo -C=O anillo de un flavonoide, corroborando así la presencia de compuestos bioactivos.
- La temperatura de transición vítrea (Tg) promedio de las microcápsulas es de  $77,85 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .
- En la morfología de las microcápsulas, se evidencia en menor proporción la forma esférica lisa y en mayor proporción la forma esférica rugosa con hendiduras, efecto característico del secado por aspersión, las microcápsulas mostraron un tamaño promedio de  $7,69 \pm 2,19\text{ }\mu\text{m}$  y las mayores frecuencias en un diámetro que varía de 4,90 a  $7,99\text{ }\mu\text{m}$ .
- Los modelos de Weibull y Gammariello se ajustan para estimar el comportamiento de los datos experimentales de los compuestos bioactivos de las microcápsulas de verbena durante su almacenamiento, con errores relativos generales que varían de 2,03% a 7,48% y coeficiente de determinación que varían de 0,980 a 0,996 cercanos a la unidad. Demostrando que estos dos modelos propuestos se pueden utilizar para predecir la vida útil de las microcápsulas en función de la bioactividad.
- La protección promedia de las microcápsulas después de abordar la fase salivaria, gástrica e intestinal fue de 72,38 %, 84,03 %, 60,33 %, 77,86 % para compuestos fenólicos, flavonoides totales, capacidad antioxidante DPPH y ABTS, respectivamente.

## **VI. PROPUESTAS A FUTURO**

- Microencapsular el extracto acuoso de la verbena con otros métodos de microencapsulación para determinar cuál proporciona mayor estabilidad, eficiencia de microencapsulación bioactiva y rendimiento de proceso.
- Microencapsular compuestos bioactivos de la verbena haciendo el uso de otros materiales de pared como alginato, pectina, proteína para ver su eficiencia.
- Utilizar los modelos matemáticos para predecir la vida útil de las microcápsulas durante el almacenamiento en otras matrices de fuente bioactiva.
- Investigar como las variables temperatura, humedad y la luz, afectan la vida útil de las microcápsulas y cómo los modelos Weibull y Gammariello pueden adaptarse a estas condiciones.
- Someter las microcápsulas del extracto acuoso de verbena a diferentes parámetros de temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento.

## VII. REFERENCIAS

- Acosta-Vega, L., Martínez-Suárez, J. F., Sánchez-Garzón, F. S., Hernández-Carrión, M., & Nerio, L. S. (2023). Optimización del proceso de encapsulación de pulpa de Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) mediante secado por aspersion como alternativa para la valorización de frutos amazónicos. *LWT*, *184*, 114994. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114994>
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *21*(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Apostolidis, P., Elwardany, M., Andriescu, A., Mensching, D. J., & Youtcheff, J. (2023). Study of phase behavior of epoxy asphalt binders using differential scanning calorimetry. *Construction and Building Materials*, *369*, 130566. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2023.130566>
- Arpagaus, C., Collenberg, A., Rütli, D., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2018). Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, *546*(1-2), 194–214. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.05.03
- Avalos, B. I., Ojeda, G. A., Spinnenhirn, E. D., Acevedo, B. A., & Vallejos, M. M. (2023). Evaluation of phenolic compounds and antioxidant capacity in *Mucuna pruriens* and *Cajanus cajan* pods extracts. *Food Chemistry Advances*, *3*, 100503. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100503>
- Bakshi, R. A., Sodhi, N. S., Wani, I. A., Khan, Z. S., Dhillon, B., & Gani, A. (2022). Bioactive constituents of saffron plant: Extraction, encapsulation and their food and pharmaceutical applications. *Applied Food Research*, *2*(1), 100076. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100076>
- Balakrishnan, G., & Schneider, R. G. (2020). Quinoa flavonoids and their bioaccessibility during in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Cereal Science*, *95*, 103070. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103070>
- Barbalata-Mandru, M., Serbezeanu, D., Butnaru, M., Rîmbu, C. M., Enache, A. A., & Aflori, M. (2022). Poly(vinyl alcohol)/Plant Extracts Films: Preparation, Surface Characterization and Antibacterial Studies against Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Materials*, *15*(7). <https://doi.org/10.3390/ma15072493>
- Bergesse, A. E., Asensio, C. M., Quiroga, P. R., Ryan, L. C., Grosso, N. R., & Nepote, V. (2023). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from soybean seed coats

- by spray-drying. *Journal of Food Science*, 88(11), 4457-4471. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16775>
- Bilia, A. R., Giomi, M., Innocenti, M., Gallori, S., Vincieri, F. F. (2008). HPLC-DAD-ESI-MS analysis of the constituents of aqueous preparations of verbena and lemon verbena and evaluation of the antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(3), 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.11.007>
- Briones-Labarca, V., Venegas-Cubillos, G., Ortiz-Portilla, S., Chacana-Ojeda, M., & Maureira, H. (2011). Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chemistry*, 128(2), 520–529. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.074>
- Calderón-Oliver, M., & Ponce-Alquicira, E. (2022). The Role of Microencapsulation in Food Application. *Molecules*, 27(5), 1499. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27051499>.
- Calvo, M. I. (2006). Anti-inflammatory and analgesic activity of the topical preparation of *Verbena officinalis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(3), 380–382. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.03.037>
- Can Karaca, A. (2020). Encapsulation of black pepper seed oil using maltodextrin and pea protein. *Food Science and Technology International = Ciencia Y Tecnologia De Los Alimentos Internacional*, 26(5), 369-378. <https://doi.org/10.1177/1082013219896429>
- Careche, M., Luten, J. B., Kole, A., Schelvis, R., Saura-Calixto, F., Scholten, O. E., Diaz-Rubio, M. E., Toonen, M. A. J., Schram, E., Borderias, A. J., Sánchez-Alonso, I., Carmona, P., Sánchez-Gonzalez, I., Gormley, T. R., Oehlenschläger, J., Mierke-Klemeyer, S., Elvevoll, E. O., Leonor Nunes, M., Bandarra, N., ... Larsen, E. H. (2008). 17 - Developing functional seafood products. In T. Børresen (Ed.), *Improving Seafood Products for the Consumer* (pp. 331–362). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9781845694586.4.331>
- Casanova, E., García-Mina, J. M., & Calvo, M. I. (2008). Antioxidant and antifungal activity of *Verbena officinalis* L. leaves. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(3), 93–97. <https://doi.org/10.1007/s11130-008-0073-0>
- Castejón, N., Luna, P., & Señoráns, F. J. (2021). Microencapsulation by spray drying of omega-3 lipids extracted from oilseeds and microalgae: Effect on polyunsaturated fatty acid composition. *LWT*, 148, 111789. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111789>

- Chatterjee, S., Poduval, T. B., Tilak, J. C., & Devasagayam, T. P. A. (2005). A modified, economic, sensitive method for measuring total antioxidant capacities of human plasma and natural compounds using Indian saffron (*Crocus sativus*). *Clinica Chimica Acta*, 352(1), 155–163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.09.012>
- Chen, Y., Gan, Y., Yu, J., Ye, X., & Yu, W. (2023). Key ingredients in *Verbena officinalis* and determination of their anti-atherosclerotic effect using a computer-aided drug design approach. *Frontiers in plant science*, 14, 1154266. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1154266>
- Cheng, H., Wang, Y., Hong, Y., Wu, F., Shen, L., & Lin, X. (2024). Low-viscosity hydroxypropyl methylcellulose obtained by electron beam irradiation and its performance in spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 275, 133626. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133626>
- Costa, A. S. G., Alves, R. C., Vinha, A. F., Barreira, S. V. P., Nunes, M. A., Cunha, L. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53, 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.006>.
- Cudennec, B., Caradec, T., Catiau, L., & Ravallec, R. (2012). Chapter 31 - Upgrading of Sea By-products: Potential Nutraceutical Applications. In S.-K. Kim (Ed.), *Marine Medicinal Foods* (Vol. 65, pp. 479–494). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416003-3.00031-7>.
- Ćujić Nikolić, N., Žilić, S., Simić, M., Nikolić, V., Živković, J., Marković, S., & Šavikin, K. (2023). Microencapsulates of Blue Maize Polyphenolics as a Promising Ingredient in the Food and Pharmaceutical Industry: Characterization, Antioxidant Properties, and In Vitro-Simulated Digestion. *Foods*, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/foods12091870>.
- Deepak, M., & Handa, S. S. (2000). Antiinflammatory activity and chemical composition of extracts of *Verbena officinalis*. *Phytotherapy Research*, 14(6), 463–465. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200009\)14:6<463::AID-PTR611>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200009)14:6<463::AID-PTR611>3.0.CO;2-G)
- Dai, X., Zhou, X., Shao, R., Zhao, R., Yanamandra, A. K., Xing, Z., Ding, M., Wang, J., Liu, T., Zheng, Q., Zhang, P., Zhang, H., Wang, Y., Qu, B., & Wang, Y. (2023). Bioactive Constituents of *Verbena officinalis* Alleviate Inflammation and Enhance Killing Efficiency of Natural Killer Cells. *International journal of molecular sciences*, 24(8), 7144. <https://doi.org/10.3390/ijms24087144>
- De Souza, V. B., Thomazin, M., Carvalho Balieiro, J. C. D., Fávaro-Trindade, C. S. (2015).

- “Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*),” *Food Bioprod. Process*, 93: 39-50.
- Delia, S.-C., Chávez, G. M., León-Martínez Frank, M., Araceli, S.-G. P., Irais, A.-L., & Franco, A.-A. (2019). Microencapsulación por secado por aspersión de extractos ricos en betalaína de frutos de *Escontria chiotilla* y *Stenocereus queretaroensis* utilizando mucílago de cactus. *Food Chemistry*, 272, 715-722. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.069>
- Dent, M., Dragović-Uzelac, V., Elez Garofulić, I., Bosiljkov, T., Ježek, D. y Brnčić, M. (2015). Comparación de técnicas de extracción convencionales y asistidas por ultrasonidos sobre la fracción masiva de compuestos fenólicos de salvia (*Salvia officinalis* L.). *Ingeniería química y bioquímica trimestral*, 29 (3), 475-484.
- Dobrucka, R., Romaniuk-Drapała, A., & Kaczmarek, M. (2021). Anti-Leukemia Activity of Au/CuO/ZnO Nanoparticles Synthesized used Verbena officinalis Extract. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(1), 191–202. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01690-8>
- Dobrucka, R., Romaniuk-Drapała, A., & Kaczmarek, M. (2021). Anti-Leukemia Activity of Au/CuO/ZnO Nanoparticles Synthesized used Verbena officinalis Extract. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(1), 191-202. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01690-8>
- Eghbal, N., Viton, C., & Gharsallaoui, A. (2022). Nano and microencapsulation of bacteriocins for food applications: A review. *Food Bioscience*, 50, 102173. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102173>
- Esquivel-González B.E., Ochoa Martínez L.A. y Rutiaga-Quiñones O.M. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 16(2):180-192.
- Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R. (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale: Verbena officinalis. *Biologie Aujourd'hui*, 215(3-4), Article 3-4. <https://doi.org/10.1051/jbio/2021009>
- Fan, S., Li, J., Zhang, X., Xu, D., Liu, X., Dias, A. C. P., Zhang, X., & Chen, C. (2022). A study on the identification, quantification, and biological activity of compounds from *Cornus officinalis* before and after in vitro gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. *Journal of Functional Foods*, 98, 105272. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105272>.

- Gammariello, D., Chillo, S., Mastromatteo, M., Di Giulio, S., Attanasio, M., & Del Nobile, M. A. (2008). Effect of chitosan on the rheological and sensorial characteristics of apulia spreadable cheese. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4155–4163. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1280>
- Gómez-García, R., Vilas-Boas, A. A., Machado, M., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2022). Impact of simulated in vitro gastrointestinal digestion on bioactive compounds, bioactivity and cytotoxicity of melon (*Cucumis melo* L. inodorus) peel juice powder. *Food Bioscience*, 47, 101726. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101726>
- González-Ortega, R., Faieta, M., Di Mattia, C. D., Valbonetti, L., & Pittia, P. (2020). Microencapsulation of olive leaf extract by freeze-drying: Effect of carrier composition on process efficiency and technological properties of the powders. *Journal of Food Engineering*, 285, 110089. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110089>
- Guo, J., Li, P., Kong, L., & Xu, B. (2020). Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. *LWT*, 132, 109892. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109892>
- Hogervorst Cvejić, J., Atanacković Krstonošić, M., Bursać, M., & Miljić, U. (2017). Chapter 7 - Polyphenols. In C. M. Galanakis (Ed.), *Nutraceutical and Functional Food Components* (pp. 203–258). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00007-7>
- Huang, Y.-H., Li, X., Michelon, M., Leopercio, B. C., Carvalho, M. S., & Frostad, J. M. (2021). Effects of aging on the shelf life and viscoelasticity of gellan gum microcapsules. *Food Hydrocolloids*, 121, 106982. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106982>
- İlhan Dincer, E., & Temiz, H. (2023). Investigation of physicochemical, microstructure and antioxidant properties of firethorn (*Pyracantha coccinea* var. *lalandi*) microcapsules produced by spray-dried and freeze-dried methods. *South African Journal of Botany*, 155, 340–354. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.024>
- Insang, S., Kijpatanasilp, I., Jafari, S., & Assatarakul, K. (2022). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos funcionales de hojas de morera (*Morus alba* L.) utilizando metodología de superficie de respuesta y efecto de la microencapsulación por secado por aspersión sobre la calidad del extracto optimizado. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105806. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105806>
- Iturri, M. S., Calado, C. M. B., & Prentice, C. (2021). Microparticles of *Eugenia stipitata* pulp obtained by spray-drying guided by DSC: An analysis of bioactivity and in vitro

- gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 334, 127557. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127557>
- Jiang, Q., Gao, W., Li, X., Xia, Y., Wang, H., Wu, S., Huang, L., Liu, C., & Xiao, P. (2012). Characterizations of starches isolated from five different *Dioscorea* L. species. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.011>
- Jovanović, M., Čujić-Nikolić, N., Drinić, Z., Janković, T., Marković, S., Petrović, P., & Šavikin, K. (2021). Spray drying of *Gentiana asclepiadea* L. root extract: Successful encapsulation into powders with preserved stability of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products*, 172, 114044. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114044>
- Kepekçi, R. A., Yener İlçe, B., & Demir Kanmazalp, S. (2021). Chapter 8 - Plant-derived biomaterials for wound healing. In Atta-ur-Rahman (Ed.), *Bioactive Natural Products* (Vol. 70, pp. 227–264). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819489-8.00001-6>
- Khawas, P., & Deka, S. C. (2017). Encapsulation of Natural Antioxidant Compounds from Culinary Banana by Cocrystallization. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13033>
- Lima, K., Silva, O., Figueira, M. E., Pires, C., Cruz, D., Gomes, S., Maurício, E. M., & Duarte, M. P. (2019). Influence of the in vitro gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of *Artemisia gorgonum* Webb and *Hyptis pectinata* (L.) Poit. infusions from Cape Verde. *Food Research International*, 115, 150–159. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.029>
- Liu, C., An, F., He, H., He, D., Wang, Y., & Song, H. (2018). Pickering emulsions stabilized by compound modified areca taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) starch with ball-milling and OSA. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 556(15), 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.08.032>
- Londoño-Restrepo, S. M., Rincón-Londoño, N., Contreras-Padilla, M., Millan-Malo, B. M., & Rodríguez-García, M. E. (2018). Morphological, structural, thermal, compositional, vibrational, and pasting characterization of white, yellow, and purple Arracacha Lego-like starches and flours (*Arracacia xanthorrhiza*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 1188–1197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.021>
- López Hernández, O. D., Torres Amaro, L., González Sanabia, M. L., & Rodríguez Ferradá, C. A. (2008). Estudio de secado por aspersion hasta escala de banco del extracto acuoso de *Boerhaavia erecta* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(4), 0-0.

- López M, B. E., Carvajal de P, L. M., & Millán C, L. de J. (2009). Establecimiento de condiciones de la mezcla de pulpa de banano (*Musa paradisiaca* L.) para someter a secado por aspersión. *Vitae*, 16(3), 287-296.
- Machado, M. H., Almeida, A. da R., Maciel, M. V. de O. B., Vitorino, V. B., Bazzo, G. C., da Rosa, C. G., Sganzerla, W. G., Mendes, C., & Barreto, P. L. M. (2022). Microencapsulation by spray drying of red cabbage anthocyanin-rich extract for the production of a natural food colorant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102287. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102287>
- Machmudah, S., Wahyudiono, Kanda, H., & Goto, M. (2017). Chapter 3 - Hydrolysis of Biopolymers in Near-Critical and Subcritical Water. In H. Dominguez González & M. J. González Muñoz (Eds.), *Water Extraction of Bioactive Compounds* (pp. 69–107). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00003-6>
- Manousi, N., Sarakatsianos, I., & Samanidou, V. (2019). 10 - Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds From Medicinal and Aromatic Plants. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Engineering Tools in the Beverage Industry* (pp. 283–314). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815258-4.00010-X>
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 768–776. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197>
- Menéndez V. J. L. (2023). *Verbena officinalis*. En [asturnatura.com](http://asturnatura.com) [en línea] Num. 125, 30/04/2007 [consultado el 25/6/2023]. Disponible en [asturnatura.com](http://asturnatura.com).
- Meza-Márquez, O. G., Gallardo-Velázquez, T., & Osorio-Revilla, G. (2010). Application of mid-infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef. *Meat Science*, 86(2), 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.044>
- Michel, M. R., Aguilar-Zárate, M., Rojas, R., Martínez-Ávila, G. C. G., & Aguilar-Zárate, P. (2023). The Insecticidal Activity of *Azadirachta indica* Leaf Extract: Optimization of the Microencapsulation Process by Complex Coacervation. *Plants*, 12(6), 1318. <https://doi.org/10.3390/plants12061318>
- Millinia, B. L., Mashithah, D., Nawatila, R., & Kartini, K. (2024). Microencapsulación de antocianinas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.): Efectos de la matriz de maltodextrina

- y trehalosa sobre propiedades fisicoquímicas seleccionadas y actividades antioxidantes del polvo secado por aspersión. *Future Foods*, 9, 100300. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100300>
- Mukhametzyanov, T. A., Fatkhutdinova, A. A., & Schick, C. (2022). Step-scan differential calorimetry of protein denaturation: Modeling and experiment. *Thermochimica Acta*, 710, 179181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tca.2022.179181>
- Nisar, R., Adhikary, S., Ahmad, S., & Alam, M. A. (2022a). In Vitro Antimelanoma Properties of *Verbena officinalis* Fractions. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(19), 6329. <https://doi.org/10.3390/molecules27196329>
- Nisar, R., Ahmad, S., Khan, K. U., Sherif, A. E., Alasmari, F., Almuqati, A. F., Ovatlarnporn, C., Khan, M. A., Umair, M., Rao, H., Ghalloo, B. A., Khurshid, U., Dilshad, R., Nassar, K. S., & Korma, S. A. (2022b). Metabolic Profiling by GC-MS, In Vitro Biological Potential, and In Silico Molecular Docking Studies of *Verbena officinalis*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(19), 6685. <https://doi.org/10.3390/molecules27196685>
- Obanda, M., Owuor, P. O., & Taylor, S. J. (1997). Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2), 209–215. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199706\)74:2<209::AID-JSFA789>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199706)74:2<209::AID-JSFA789>3.0.CO;2-4)
- Ortega-Hernández, E., Camero-Maldonado, A. V., Acevedo-Pacheco, L., Jacobo-Velázquez, D. A., & Antunes-Ricardo, M. (2023). Immunomodulatory and Antioxidant Effects of *Spray-Dried* Encapsulated Kale Sprouts after In Vitro Gastrointestinal Digestion. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(11), 2149. <https://doi.org/10.3390/foods12112149>.
- Ortega-Vidal, J., Ruiz-Riaguas, A., Fernández-de Córdova, M. L., Ortega-Barrales, P., & Llorent-Martínez, E. J. (2019). Phenolic profile and antioxidant activity of *Jasonia glutinosa* herbal tea. Influence of simulated gastrointestinal in vitro digestion. *Food Chemistry*, 287, 258–264. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.101>
- Pang, S. F., Yusoff, M. M., & Gimbin, J. (2014). Extraction and Microencapsulation of Polyphenols from *Orthosiphon stamineus* Leaves. *Journal Of Mechanical Engineering And Sciences*, 7, 1033–1041. <https://doi.org/10.15282/jmes.7.2014.2.0100>
- Patle, T. K., Shrivastava, K., Kurrey, R., Upadhyay, S., Jangde, R., & Chauhan, R. (2020). Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV–vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A:*

- Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 242, 118717.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118717>
- Pham, L. B., Wang, B., Zisu, B., Truong, T., & Adhikari, B. (2021). In-vitro digestion of flaxseed oil encapsulated in phenolic compound adducted flaxseed protein isolate-flaxseed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 112, 106325.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106325>
- Polumackanycz, M., Petropoulos, S. A., Añibarro-Ortega, M., Pinela, J., Barros, L., Plenis, A., & Viapiana, A. (2022). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Common and Lemon Verbena. *Antioxidants*, 11(11), Article 11.  
<https://doi.org/10.3390/antiox11112247>
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396–3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
- Qin, J., Wang, J., Shao, X., Zhang, S., Chen, X., Lai, D., Xiao, W., Zhuang, Q., & Kuang, S. (2023). Evaluation of bioactive compounds, antioxidant capacity and mineral elements in the leaves of guava (*Psidium guajava* L.) genotypes from China. *Scientia Horticulturae*, 322, 112436.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112436>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.  
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rehecho, S., Hidalgo, O., García-Iñiguez de Cirano, M., Navarro, I., Astiasarán, I., Ansorena, D., Cavero, R. Y., & Calvo, M. I. (2011). Chemical composition, mineral content and antioxidant activity of Verbena officinalis L. *Lwt*, 44(4), 875–882.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.035>
- Remígio, M. S. do N., Greco, T., Silva Júnior, J. O. C., Converti, A., Ribeiro-Costa, R. M., Rossi, A., & Barbosa, W. L. R. (2024). Spray-Drying Microencapsulation of Bauhinia unguilata L. var. obtusifolia Aqueous Extract Containing Phenolic Compounds: A Comparative Study Using Different Wall Materials. *Pharmaceutics*, 16(4), 488.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16040488>
- Righi da Rosa, J., Nunes, G. L., Motta, M. H., Fortes, J. P., Cezimbra Weis, G. C., Rychcki Hecktheuer, L. H., Muller, E. I., Ragagnin de Menezes, C., & Severo da Rosa, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium*

- spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742–748. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>
- Rodrigues Oliveira, S. M., Dias, E., Girol, A. P., Silva, H., & Pereira, M. L. (2022). Exercise Training and *Verbena officinalis* L. Affect Pre-Clinical and Histological Parameters. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(22), 3115. <https://doi.org/10.3390/plants11223115>
- Rodríguez-Cortina, A., & Hernández-Carrión, M. (2023). Microcapsules of Sacha Inchi seed oil (*Plukenetia volubilis* L.) obtained by spray drying as a potential ingredient to formulate functional foods. *Food Research International*, 170, 113014. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113014>.
- Rodrigues Silva, F. M., Ribeiro da Silva, L. M., Gomes Duarte, A. S., da Silva Monteiro, C. E., Campos, A. R., Rodrigues Holanda, D. K., Silva de Lima, A. C., Bruno de Sousa Sabino, L., & Wilane de Figueiredo, R. (2021). Microencapsulación de extracto de té verde (*Camellia sinensis* var *assamica*) para aumentar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos y efectos gastroprotectores. *Food Bioscience*, 42, 101190. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101190>
- Sánchez-Ayora, H., & Pérez-Jiménez, J. (2023). 10 - Antioxidant capacity of seaweeds: In vitro and in vivo assessment. In J. R. Pérez-Correa, R. Mateos, & H. Domínguez (Eds.), *Marine Phenolic Compounds* (pp. 299–341). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823589-8.00006-6>
- Sanchooli, N., Saeidi, S., Barani, H. K., & Sanchooli, E. (2018). In vitro antibacterial effects of silver nanoparticles synthesized using *Verbena officinalis* leaf extract on *Yersinia ruckeri*, *Vibrio cholera* and *Listeria monocytogenes*. *Iranian Journal of Microbiology*, 10(6), 400-408.
- Schoch C. L. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford).
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. (2020). Effect of microencapsulation on antioxidant and antifungal properties of aqueous extract of pomegranate peel. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 723-733. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04105-w>
- Silva, F. M. R., Magalhaes, F. E. A., Batista, F. L. A., da Silva, L. M. R., Ricardo, N. M. P. S., de Sousa Sabino, L. B., & de Figueiredo, R. W. (2023). Microencapsulation of green tea (*Camellia sinensis*) phenolic extract: Physical-chemical characterization,

- antimicrobial and toxicological properties. *Food Chemistry Advances*, 3, 100360. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100360>.
- Silva, G. S., Gomes, M. H. G., de Carvalho, L. M., Abreu, T. L., dos Santos Lima, M., Madruga, M. S., Kurozawa, L. E., & Bezerra, T. K. A. (2024). Microencapsulation of organic coffee husk polyphenols: Effects on release, bioaccessibility, and antioxidant capacity of phenolics in a simulated gastrointestinal tract. *Food Chemistry*, 434, 137435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137435>
- Silva, M. P., Thomazini, M., Holkem, A. T., Pinho, L. S., Genovese, M. I., & Fávoro-Trindade, C. S. (2019). Production and characterization of solid lipid microparticles loaded with guaraná (Paullinia cupana) seed extract. *Food Research International*, 123, 144–152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.055>
- Simpson, M. G. (2010). Diversity and Classification of Flowering Plants: Eudicots. *Plant Systematics*, 275–448.
- Ștefănescu, B. E., Nemes, S. A., Teleky, B. E., Călinoiu, L. F., Mitrea, L., Martău, G. A., Szabo, K., Mihai, M., Vodnar, D. C., & Crișan, G. (2022). Microencapsulation and Bioaccessibility of Phenolic Compounds of Vaccinium Leaf Extracts. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(4), 674. <https://doi.org/10.3390/antiox11040674>
- Sumaira, Afridi, M. S., Hashmi, S. S., Ali, G. S., Zia, M., & Abbasi, B. H. (2018). Comparative antileishmanial efficacy of the biosynthesised ZnO NPs from genus verbena. *IET Nanobiotechnology*, 12(8), 1067–1073. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5076>
- Sumaira, Siddique Afridi, M., Salman Hashmi, S., Ali, G. S., Zia, M., & Haider Abbasi, B. (2018). Comparative antileishmanial efficacy of the biosynthesised ZnO NPs from genus Verbena. *IET Nanobiotechnology*, 12(8), 1067-1073. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5076>
- Tatasciore, S., Santarelli, V., Neri, L., Di Mattia, C. D., Di Michele, A., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2024). Microencapsulation of hop bioactive compounds by spray drying: Role of inlet temperature and wall material. *Current Research in Food Science*, 8, 100769. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100769>
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23-33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001>
- Tuncay, F. O., Cakmak, U., & Kolcuoğlu, Y. (2023). *Rhaphiolepis indica* (L.) Lindl. Fruit: LC-HRMS-based phytochemical profile, FTIR spectral, in vitro enzyme inhibition and

- antioxidant analysis. *Food Bioscience*, 56, 103228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103228>
- Yeasmen, N., & Orsat, V. (2024). Microencapsulación de extractos fenólicos de hojas de arce azucarero asistidos por ultrasonidos: Caracterización, digestión gastrointestinal *in vitro* y estabilidad durante el almacenamiento. *Food Research International*, 182, 114133. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114133>.
- Younesi, M., Peighambaroust, S. H., Sarabandi, K., Akbarmehr, A., Ahaninjan, M., & Soltanzadeh, M. (2023). Application of structurally modified WPC in combination with maltodextrin for microencapsulation of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) extract as a natural colorant source for gummy candy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124903. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124903>
- Yusoff, I. M., Mat Taher, Z., Rahmat, Z., & Chua, L. S. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, 157, 111268. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111268>
- Zanoelo, M., Barbosa-Dekker, A. M., Dekker, R. F. H., Pereira, E. A., & da Cunha, M. A. A. (2024). Microencapsulation of roasted mate tea extractives with lasiodiplodan (a (1 → 6)-β-D-glucan) and maltodextrin as combined coating materials: A strategic tool to stabilize and protect the bioactive components. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133615. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133615>
- Zanoni, F., Primiterra, M., Angeli, N., & Zoccatelli, G. (2020). Microencapsulation by spray-drying of polyphenols extracted from red chicory and red cabbage: Effects on stability and color properties. *Food Chemistry*, 307, 125535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125535>
- Zhang, A., Chen, S., Wang, Y., Wang, X., Xu, N., & Jiang, L. (2020). Stability and *in vitro* digestion simulation of soy protein isolate-vitamin D3 nanocomposites. *LWT*, 117, 108647. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108647>
- Zhang, R., Zhou, L., Li, J., Oliveira, H., Yang, N., Jin, W., Zhu, Z., Li, S., & He, J. (2020). Microencapsulation of anthocyanins extracted from grape skin by emulsification/internal gelation followed by spray/freeze-drying techniques: Characterization, stability and bioaccessibility. *LWT*, 123, 109097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109097>

Zhao, H., Guo, M., Ma, X., Ding, T., & Liu, D. (2021). Microstructure and permeability of hollow microcapsules produced from faba bean 11s protein. *Food Hydrocolloids*, *112*, 106292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106292>

**ANEXOS**

## A - I

## Rendimiento del proceso de microencapsulación

Tratamientos	Masa (g)	Masa de microcápsulas (g)	Rendimiento (%)
T1 = MD-2,5%-120°C	12,5	1,53	12
T2 = MD-5%-120°C	25	5,16	21
T3 = MD-10%-120°C	50	11,04	22
T4 = MD-15%-120°C	75	16,94	23
T5 = MD-2,5%-140°C	12,5	2,41	19
T6 = MD-5%-140°C	25	15,73	63
T7 = MD-10%-140°C	50	24,54	49
T8 = MD-15%-140°C	75	36,35	48
T9 = GA-2,5%-120°C	12,5	2,79	22
T10 = GA-5%-120°C	25	7,43	30
T11 = GA-10%-120°C	50	11,48	23
T12 = GA-15%-120°C	75	18,34	24
T13 = GA-2,5%-140°C	12,5	7,47	60
T14 = GA-5% -140°C	25	9,33	37
T15 = GA-10%-140°C	50	22,80	46
T16 = GA-15%-140°C	75	39,44	53

MD= maltodextrina DE10, GA= Goma arábica

## A - II

## Eficiencia del contenido de compuestos fenólicos en las microcápsulas

Tratamientos	Masa promedio de compuestos fenólicos (mg EAG)		Eficiencia de microencapsulación (%)
	En el extracto	En las microcápsulas	
T1 = MD-2,5%-120°C	290,678	43,447	14,95
T2 = MD-5%-120°C	290,678	76,504	26,32
T3 = MD-10%-120°C	290,678	96,861	33,32
T4 = MD-15%-120°C	290,678	109,720	37,75
T5 = MD-2,5%-140°C	290,678	59,663	20,53
T6 = MD-5%-140°C	290,678	209,221	71,98
T7 = MD-10%-140°C	290,678	203,735	70,09
T8 = MD-15%-140°C	290,678	228,827	78,72
T9 = GA-2,5%-120°C	290,678	72,696	25,01
T10 = GA-5%-120°C	290,678	90,918	31,28
T11 = GA-10%-120°C	290,678	59,047	20,31
T12 = GA-15%-120°C	290,678	67,774	23,32
T13 = GA-2,5%-140°C	290,678	190,362	65,49
T14 = GA-5% -140°C	290,678	110,021	37,85
T15 = GA-10%-140°C	290,678	110,514	38,02
T16 = GA-15%-140°C	290,678	139,637	48,04

MD= maltodextrina DE10, GA= Goma arábica

## A - III

Eficiencia del contenido de flavonoides totales en las microcápsulas

Tratamientos	Masa promedio de flavonoides (mg EC)		Eficiencia de microencapsulación (%)
	En el extracto	En las microcápsulas	
T1 = MD-2,5%-120 °C	88,415	13,257	14,99
T2 = MD-5%-120 °C	88,415	23,955	27,09
T3 = MD-10%-120 °C	88,415	28,074	31,75
T4 = MD-15%-120 °C	88,415	34,079	38,54
T5 = MD-2,5%-140 °C	88,415	17,367	19,64
T6 = MD-5%-140 °C	88,415	63,675	72,02
T7 = MD-10%-140 °C	88,415	58,059	65,67
T8 = MD-15%-140 °C	88,415	68,989	78,03
T9 = GA-2,5%-120 °C	88,415	22,339	25,27
T10 = GA-5%-120 °C	88,415	37,971	42,95
T11 = GA-10%-120 °C	88,415	29,483	33,35
T12 = GA-15%-120 °C	88,415	34,576	39,11
T13 = GA-2,5%-140 °C	88,415	56,031	63,37
T14 = GA-5% -140 °C	88,415	41,072	46,45
T15 = GA-10%-140 °C	88,415	47,886	54,16
T16 = GA-15%-140 °C	88,415	61,385	69,43

MD= maltodextrina DE10, GA= Goma arábica

## A - IV

Tests de distribución normal de los datos experimentales referente a compuestos fenólicos y flavonoides.

Datos	<i>p-value</i>		
	<i>Test de Shapiro-Wilk</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	<i>Chi-cuadrado</i>
Fenoles totales	0,0310	n.s.	0,2988
Flavonoides	0,0592	n.s.	0,8134

n.s. no significativo

## A - V

Homogeneidad de las varianzas de los datos experimentales para compuestos fenólicos y flavonoides de las microcápsulas de verbena.

Datos experimentales	<i>p-value</i>
	<i>Test de Levene</i>
Fenoles totales	0,092
Flavonoides	0,988

**A - VI**

ANOVA para la eficiencia de compuestos fenólicos en microcápsulas de extracto de verbena

<b>Fuentes de variación</b>	<b>grados de libertad</b>	<b>suma de cuadrados</b>	<b>cuadrados medios</b>	<b>F calculado</b>	<b>Valor de F critico</b>	<b>p-value</b>
tratamiento	15	19080,27	1272,02	279,43	1,99	0,0000
error experimental	32	145,67	4,55			
total	47	19225,94				

**A - VII**

ANOVA para la eficiencia de flavonoides totales en microcápsulas de extracto de verbena

<b>Fuente de variación</b>	<b>grados de libertad</b>	<b>suma de cuadrados</b>	<b>cuadrados medios</b>	<b>F calculado</b>	<b>Valor de F critico</b>	<b>p-value</b>
tratamiento	15	17740,55	1182,70	95,402	1,99	0,0000
error experimental	32	396,71	12,40			
total	47	18137,26				

**A - VIII**

Recolección, transporte, lavado y oreado de la Verbena







### A - IX

Triturado y extracción de los compuestos bioactivos con ondas acústicas



A - X

Preparación de las soluciones con material de pared y atomizado



**A - XI**

Análisis de los compuestos bioactivos

**A - XII**

Determinación de enlaces químicos OH por FTIR



**A - XIII**

Determinación de la temperatura de transición vítrea DSC

**A - XIV**

Determinación de la microestructura y distribución de partículas por SEM

**A - XV**

Almacenamiento para determinar la vida útil de las microcápsulas



A - XVI

Simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro*

