

Effect of temperature on the properties of encapsulated garlic (*Allium sativum*)

Efecto de temperatura en las propiedades del ajo (*Allium sativum*) encapsulado

Yoselin REYES-HERRERA¹, María Isabel REYES-ARREOZOLA¹, Bethsua MENDOZA-MENDOZA¹, Ana Guadalupe ESTRADA-FERNÁNDEZA^{1*}

¹ Tecnológico Nacional de México, ITS del Oriente del estado de Hidalgo, Carretera ApanTepeapulco Km 3.5, Colonia Las Peñitas, Apan Hidalgo, CP. 43900, México.

Sent date: 23/04/2022 Acceptance date: 8/July/2022

Abstract:

Garlic (*Allium sativum*) has bioactive compounds that have a beneficial impact on health, highlighting its antioxidant properties; however, these compounds are thermo and photosensitive, which limits their application in food development. The objective of this research was to determine the protection offered by encapsulation by means of double emulsions on the antioxidant compounds present in garlic against the temperature used for drying and processing. The results of FTIR, in fresh garlic (AF) and dry (AS), vibrations between 2849 and 2910 cm^{-1} , corresponding to the symmetric and asymmetric stretching of the C-H bond; 640 and 1629 cm^{-1} , to the stretch of -COOH; 1417 cm^{-1} to CH flexion and 1181-914 cm^{-1} to CH deformations, and skeletal stretching of C-O and C-C. The X-ray results showed that the AS presented higher crystallinity, and once the AF showed an amorphous structure, due to a higher water content. The heat treatment used (40° C) did not affect the antioxidant properties, however, the results obtained by FTIR and X-rays indicate that the use of temperature for dehydration is generating variations in the structure of garlic.

Keywords: Garlic, antioxidants, FTIR, X-rays, encapsulated.

Resumen:

El ajo (*Allium sativum*) posee compuestos bioactivos que impactan de una forma benéfica en la salud, destacando sus propiedades antioxidantes; sin embargo, estos compuestos son termo y fotosensibles, lo que limita su aplicación en el desarrollo de alimentos. El objetivo de la de la presente investigación fue determinar la protección que ofrece la encapsulación por medio de emulsiones dobles sobre los compuestos antioxidantes presentes en el ajo contra la temperatura empleada para su secado y procesamiento. Los resultados de FTIR, en ajo fresco (AF) y seco (AS), presentaron vibraciones entre 2849 y 2910 cm^{-1} , correspondientes al estiramiento simétrico y asimétrico del enlace C-H; 640 y 1629 cm^{-1} , al estiramiento de -COOH; 1417 cm^{-1} a la flexión CH y de 1181-914 cm^{-1} a deformaciones de CH, y estiramientos esqueléticos de C-O y C-C. Los resultados de rayos X demostraron que el AS presentó mayor cristalinidad, y a su vez el AF mostró una estructura amorfa, debido a un mayor contenido de agua. El tratamiento térmico utilizado (30° C), no afectó las propiedades antioxidantes, sin embargo, los resultados obtenidos mediante FTIR y

rayos X, denotan que la utilización de temperatura para su deshidratación está generando variaciones en la estructura del ajo.

Palabras clave: Ajo, antioxidantes, FTIR, rayos X, encapsulados.

* Corresponding author. E-mail: aestrada@itesa.edu.mx
Tel. 771-214-47-14

1. Introducción

El ajo se ha utilizado desde la antigüedad tanto por sus aplicaciones culinarias como por sus múltiples propiedades terapéuticas (Ramírez-Concepción *et al.*, 2016). Posee distintos componentes, entre los que destacan vitaminas A, C y del complejo B; así como un alto contenido de compuestos fenólicos y fitosteroles (Bender y Barenas, 2013). Este alimento contiene un compuesto llamado alicina, el cual es considerado el componente biológicamente activo más importante del bulbo (Ramírez-Concepción *et al.*, 2016). Es considerado como un alimento funcional, debido a su elevada capacidad antioxidante, la cual se atribuye a sus compuestos azufrados, aminoácidos libres y selenio, siendo componentes activos que ayudan a la captación de radicales libres. El efecto antioxidante que ofrecen estos compuestos es dependiente de la dosis y el tiempo en el que es aplicado (Torija *et al.*, 2013).

En los últimos años, México ha intensificado el cambio en los hábitos de consumo hacia una alimentación sana, por lo tanto, se reconoce al ajo como un alimento que reúne estas características. Presenta un consumo aproximado de 500g per cápita; el 82% se consume fresco y el 18% en diferentes productos procesados como polvo, cuyo proceso implica el uso de altas temperaturas. Por lo tanto, con el fin de mejorar la integridad y la biodisponibilidad que tienen estos compuestos, se ha investigado la incorporación de compuestos bioactivos en membranas semipermeables, esféricas, delgadas y resistentes contra factores ambientales externos, esto es un enfoque que está recibiendo un interés considerable. La encapsulación es un sistema que es utilizada para estabilizar compuestos bioactivos, debido a que provee la protección necesaria contra la luz, el oxígeno, pH extremo y temperatura, permitiéndoles alcanzar concentraciones adecuadas en el lugar de acción, mantiene la integridad química del complejo bioactivo y evita que las sustancias activas sufran modificaciones químicas durante el almacenamiento (Tomišk *et al.*, 2018). Las emulsiones dobles del tipo agua-en-aceite-en-agua ($W_1/O/W_2$) han recibido un reconocimiento generalizado de su valor percibido para contribuir al desarrollo de nuevos productos y como vehículos para la encapsulación de compuestos bioactivos. El objetivo de la de la presente investigación fue determinar la protección que ofrece la encapsulación por medio de emulsiones dobles sobre los compuestos antioxidantes presentes en el ajo contra la temperatura empleada para su secado y procesamiento.

2. Materiales y Métodos

Los materiales que se utilizaron para la realización de la presente investigación se describen a continuación. Ajo blanco fresco, ajo blanco seco, radical ABTS, radical DPPH, aceite de canola (Capullo®, Unilever de México, S.A. de C.V., Tultitlan, Estado de México, México), goma arábica (GA) (Sigma-Aldrich, Toluca, Estado de México, México, goma de mezquite (GM), maltodextrina DE 10 (MD).

A partir de los bulbos de ajo, se prepararon dos muestras, ajo fresco (AF) y ajo seco (AS).

2.1. Secado del ajo

A partir de 500g de muestra pelada y en rodajas, se realizó el secado del producto durante 26 h a $40 \pm 1^\circ$ C, en un horno de convección forzada (Riossa, modelo E-51, ciudad de México, México). Una vez obtenido el ajo seco, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se prosiguió a su trituración en un molino de cuchillas GM 200 (Retsch GmbH, Haan, Alemania).

2.2. Extracción de los compuestos antioxidantes de ajo

Se pesaron 50g de las muestras de ajo (ajo seco y ajo fresco), se mezclaron con 250mL de disolvente (agua destilada). Cada muestra se incubó a 25° C en agitación durante 24 h en una incubadora Labtech (Mod. LSI-3016^a) (Jang *et al.*, 2018).

2.3. Radicales libres ABTS

Se preparó una solución compuesta por el radical ABTS (0.0277 g disueltos en 10mL de etanol al 20% v/v) y 0.066g de persulfato de potasio disueltos en 100mL de agua destilada. Se tomaron 10mL de persulfato preparado y se agregaron a los 10mL de radical con etanol, se dejaron en agitación toda la noche cubierto de la luz. Se mezclaron 2mL de ABTS estabilizado (para estabilizar el radical se tomó radical y se agregó etanol al 20% v/v hasta alcanzar una absorbancia de 0.700 ± 0.01) con 200 μ L de muestra y se dejó actuar durante 6 minutos. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro marca VELAB. Los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición (León-López, *et al.*, 2020).

2.4. Actividad de eliminación de radicales libres DPPH

Se disolvieron 0.0039g de DPPH en 50mL de metanol al 80% v/v y se dejó en agitación 24 h en oscuridad. Se mezclaron 2.5mL del radical estabilizado y 500 μ L de muestra. La reacción se dejó actuar durante 30 min La absorbancia se midió a 515 nm en un espectrofotómetro marca VELAB. Los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición (León-López, *et al.*, 2020).

2.5. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La determinación de la estructura química de las muestras de AF y AS se realizó mediante FTIR con un equipo Perkin Elmer. MA, USA. Para cada muestra, la región se escaneó de 400 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} en 48 escaneos.

2.6. Difracción de Rayos X

Ambas muestras, AF y AS, se analizaron en un difractómetro de rayos X (DRX) (Kristalioflex Siemens). Se corrieron las muestras hasta un ángulo 2θ de 44° . Para la preparación de la muestra se utilizó la técnica de polvos depositando una determinada cantidad de muestra en un portaobjetos, con un espesor de muestra homogénea.

2.7. Formulación de emulsiones dobles

Las emulsiones se realizaron por el método de dos etapas. En la primera, una emulsión de agua en aceite (W_1/O) fue preparada, incorporando una fase acuosa interna (W_1) constituida por extractos ajo seco (EAS) y extractos de ajo fresco (EAF) en una fase oleosa (O), conteniendo aceite de canola con una concentración total de emulsificantes de 8% p/p (1 parte de emulsificante hidrófilo por 4 partes de emulsionante lipófilo). El emulsificante hidrofílico fue Panodan SDK (ésteres de monoglicéridos y diglicéridos de ácido diacetil tartárico) y el emulsionante hidrofóbico fue Grindsted PGPR 90 (ésteres de poliglicerol y ácidos grasos polirricinoleato, Danisco México, S.A. de C.V.). En la segunda etapa, 30 mL de la emulsión primaria (W_1/O) fue re-emulsificada en 70mL de medio acuoso, con mezcla ternaria de polisacáridos de Goma Arábica (GA) 17%, Goma de Mezquite (GM) 66% y Maltodextrina (MD) 17% como fase acuosa externa (W_2) (Espino-Manzano *et al.*, 2020).

2.8. Análisis de tamaño de emulsión doble

El diámetro de las gotas de las emulsiones dobles se determinó utilizando un microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japón) acoplado a un sistema analizador de imágenes Software Image ProPlus versión 4.5 (Media Cybernetics, Inc., L.P., Silver Spring, E.U.) (Espino-Manzano *et al.*, 2020).

2.9. Evaluación del efecto de la temperatura en emulsiones con extractos entrapados.

Se colocaron 10mL de las emulsiones en tubos con tapa en baño maría a diferentes temperaturas (75 y 95°C), durante 3 min. Transcurrido el tiempo se realizó la determinación de actividad antioxidante. Las emulsiones se codifican de la siguiente manera; $W_1/O/W_{X,Y}$, donde el subíndice X representa el tratamiento de ajo (AS o AF) y el subíndice Y representa la temperatura utilizada (75 o 95°C) (Victoria-León *et al.*, 2006).

2.10. Análisis estadístico.

Se utilizó un diseño completamente al azar. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y se reportaron como media \pm DE. Se aplicó un análisis de varianza de clasificación simple, y cuando fue apropiado, se utilizaron pruebas de Tukey para determinar diferencias entre las medias ($p \leq 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el software NCSS 2000 (Kaysville, Utah, E.U.).

3. Resultados y Discusión

El uso de temperaturas elevadas causa daño en los compuestos funcionales, por lo que para verificar los cambios en la estructura química del ajo al ser sometido a un tratamiento térmico (AS) en comparación con el AF, las muestras fueron sometidas a espectroscopia FTIR (Figura 1). El espectro del AF con el AS no mostró cambios significativos en las posiciones de las bandas, solo un cambio en la intensidad en las regiones de 3500-3000 y 1600-1500 cm^{-1} , solo un cambio en la intensidad de las bandas de los picos. Este comportamiento también fue reportado por Estrada-Fernández et al., (Estrada-Fernández *et al.*, 2020), donde observaron el secado de partículas a diferentes temperaturas obtenidas de un coacervado formado entre concentrado de proteína de suero y goma arábica.

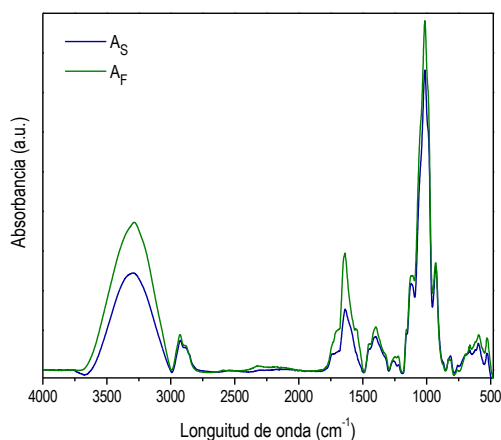


Figura 1. Espectro FT-IR de las muestras de ajo seco (AS) y ajo fresco (AF) de 4000 a 500 cm^{-1} .

Estos resultados indican que el AS a pesar de sufrir un tratamiento térmico para la eliminación de agua, no presentó modificaciones en su estructura química al ser comparado con el AF, el cambio en la variación de la intensidad de las bandas puede deberse a un reajuste estructural (Estrada-Fernández *et al.*, 2020). Esto sugiere que el proceso de secado no afecta a los compuestos químicos del ajo y lo hace adecuado para la encapsulación. En la figura 2, se presenta el difractograma de rayos X, en el cual se observa

un pico dominante característico de materiales amorfos, esto debido a la presencia de un mayor contenido de agua. El pico del AF presenta un desplazamiento hacia valores mayores del ángulo y un pico más reducido en el AS, esto puede deberse a que el AS, aparte de haber sido sometido a un tratamiento térmico igual presentó una reducción de tamaño (molienda).

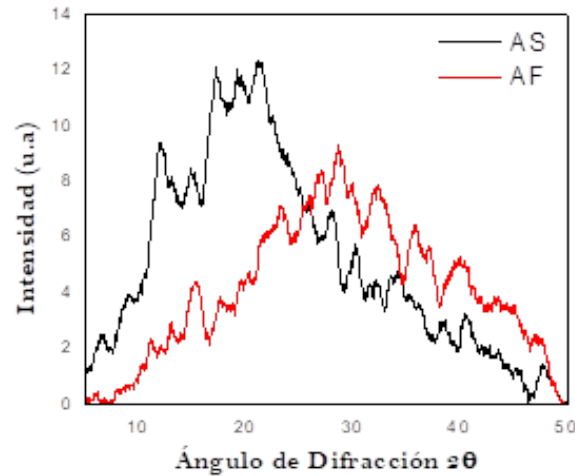


Figura 2. Difractograma de rayos X tomados a las muestras.

En las figuras 3a y b, se muestra la emulsión doble encapsulando ajo fresco ($W_1/O/W_{AF}$) y emulsión doble encapsulando ajo seco ($W_1/O/W_{AS}$). Ambas emulsiones se mantuvieron estables por un periodo de más de 7 días de almacenamiento, lo que sugiere que puede ser un sistema adecuado y estable para la encapsulación de los compuestos antioxidantes del ajo. Se midió el diámetro de las gotas en el tiempo para estimar su estabilidad.

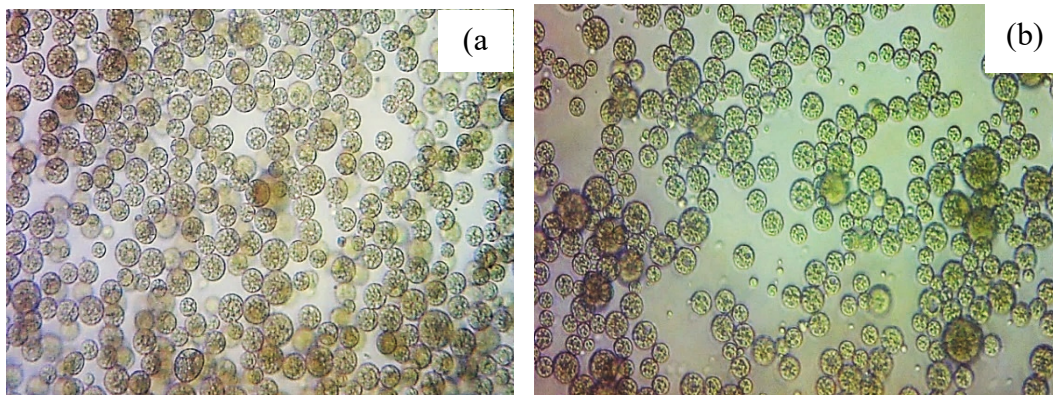


Figura 3. Emulsiones dobles: (a) $W_1/O/W_{AF}$ y (b) $W_1/O/W_{AS}$ al séptimo día de almacenamiento.

Las formulaciones evaluadas de las emulsiones dobles presentaron un incremento significativo en el diámetro de la emulsión tanto en la primaria de 1.39 ± 0.15 a $1.48 \pm 0.17 \mu\text{m}$ para la emulsión $W_1/O/W_{AF}$ y de 1.59 ± 0.22 a $1.69 \pm 0.20 \mu\text{m}$ para la emulsión $W_1/O/W_{AS}$. Este comportamiento igual fue observado en las gotas de la emulsión doble, de 10.42 ± 0.29 a $11.75 \pm 0.34 \mu\text{m}$ y 1.95 ± 0.22 a $12.16 \pm 0.03 \mu\text{m}$, respectivamente. Esto indica que existe una inestabilidad en las gotas interiores, una coalescencia, que se da por la fusión de gotas para crear una gota más grande, pero sin llegar a una separación de la emulsión doble. Existen tres tipos de emulsiones dobles, tipo (A, B y C). La emulsión doble formada fue del tipo C, donde la mayoría de las gotas de la emulsión múltiple contienen un número sustancial de gotas internas, con forma esféricas. Con base en los resultados obtenidos en la medición de diámetro de las emulsiones Se puede considerar que son estables para ser aplicados como sistema de protección y en una matriz alimentaria, ya que al ser de tamaño micrométrico son sensorialmente imperceptibles.

En la tabla 1 se muestran los resultados para actividad antioxidante de los extractos encapsulados y sin encapsular. El porcentaje de inhibición de DPPH y de ABTS no presentaron diferencias significativas entre el AF y AS. En cuanto a los extractos encapsulados en las emulsiones dobles si se observaron diferencias significativas. Se puede observar un porcentaje de inhibición mayor en la temperatura de 75°C en comparación con la de 95°C . También se presenta un mayor porcentaje de inhibición los compuestos encapsulados en comparación con los extractos libres. Estos resultados indican que el proceso de encapsulación está protegiendo a los compuestos sensibles presentes en el ajo, y por lo tanto el porcentaje de inhibición es mayor en los extractos que fueron encapsulados y menor en los extractos libre. Por lo tanto, este sistema de encapsulación por emulsiones dobles puede ser utilizado con este propósito (Estrada-Fernández *et al.*, 2017).

TABLA 1. Actividad de inhibición de radicales DPPH y ABTS.

Tratamiento	Inhibición de radicales (%)	
	DPPH	ABTS
AF	23.54 ± 0.24^a	38.74 ± 0.43^a
AS	24.01 ± 0.17^a	37.98 ± 0.29^a
$W_1/O/W_{AF95}$	28.27 ± 0.33^b	39.47 ± 0.14^b
$W_1/O/W_{AF75}$	29.14 ± 0.01^c	40.12 ± 0.08^c
$W_1/O/W_{AS95}$	30.12 ± 0.28^b	38.56 ± 0.33^b
$W_1/O/W_{AS75}$	34.47 ± 0.24^c	39.14 ± 0.11^c

Los resultados se expresan como valores medios \pm desviación estándar. Los superíndices con letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Las emulsiones se codifican de la siguiente manera; $W_1/O/W_{X,Y}$, donde el subíndice X representa el tratamiento de ajo (AS o AF) y el subíndice Y representa la temperatura utilizada (75 o 95°C).

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos mediante FTIR y rayos X, denotan que la utilización de temperatura para su deshidratación no está generando variaciones en la estructura del ajo. Por lo tanto, esta temperatura puede ser recomendable para la obtención del ajo deshidratado, ya que se considera un buen método de conservación de las propiedades antioxidantes del bulbo. La emulsión doble en la cual se encapsularon los extractos del ajo fue estable en un periodo de tiempo prolongado (7 días) y protegió a los compuestos antioxidantes presentes en el ajo contra las temperaturas de procesamiento a las cuales se sometieron las muestras. El tratamiento térmico utilizado a temperaturas de 75 y 95° C no afectaron las propiedades antioxidantes del ajo encapsulado en comparación con el ajo sin encapsular. Estos resultados indican que el encapsulamiento de los compuestos antioxidantes del ajo puede ser un método tecnológico, que aplicado a un alimento en el cual se involucre el uso de temperatura para su elaboración, favorezca la estabilidad de dichos compuestos bioactivos.

5. Referencias

- Bender B., D., & Barenas P., M. (2013). El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos.
- Espino-Manzano, S. O., León-López, A., Aguirre-Álvarez, G., González-Lemus, U., Prince, L., & Campos-Montiel, R. G. (2020). Application of Nanoemulsions (W/O) of Extract of *Opuntia oligacantha* CF Först and Orange Oil in Gelatine Films. *Molecules*, 25(15), 3487.
- Estrada-Fernández, A.G., Dorantes-Bautista, G., Román-Guerrero, A., Hernández-Uribe, J.P., Jiménez, R. (2020). Modification of *Oxalis tuberosa* starch with OSA, characterization and application in food-grade Pickering emulsion. *Journal of Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04790-y>.
- Estrada-Fernández, A.G., Román-Guerrero, A., Jiménez-Alvarado, R., Lobato-Calleros, C., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J. (2017). Stabilization of oil-in-water-in-oil (O₁/W/O₂) Pickering double emulsions by soluble and insoluble whey protein concentrate-gum Arabic complexes used as inner and outer interfaces, *Journal of Food Engineering*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.10.006
- Jang, H. J., Lee, H. J., Yoon, D. K., Ji, D. S., Kim, J. H., & Lee, C. H. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic byproducts extracted with different solvents. *Food science and biotechnology*.
- León-López, A., Pérez-Marroquín, X. A., Campos-Lozada, G., Campos-Montiel, R. G., & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Characterization of whey-based fermented beverages

supplemented with hydrolyzed collagen: Antioxidant activity and bioavailability. *Foods*, 9(8), 1106.

Ramírez-Concepción, H. R., Castro-Velasco, L. N., & Martínez-Santiago, E. (2016). Efectos terapéuticos del ajo (*Allium sativum*). *Revista Salud y Administración*, 3(8), 39-47,

Tomišk Alena, Ljubiša Šarić, Serena Bertoni, Michele Protti, Beatrice Albertini, Laura Mercolini, Nadia Passerini. (2018). Encapsulations of wild garlic (*Allium ursinum* L.) extract using spray congealing technology. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2018.10.081.

Torija, M. E., Matallana, C., & Chalup, N. (2013). El ajo y la cebolla: de las medicinas antiguas al interés. actual. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología*.

Victoria-León, T., Totosaus, A., Guerrero, I., & Pérez-Chabela, M. L. (2006). Efecto De Bacterias Ácido Lácticas Termoresistentes En Salchichas Cocidas Thermoresistan Lactic Acid Bacteria Effect on Cooked Sausages. *CYTA-Journal of Food*, 5(2), 135-141.