



ORIGINAL

Evaluación de la goma de Guazuma ulmifolia para encapsular fracciones peptídicas inhibitorias de la ECA

Evaluation of the native gum of Guazuma ulmifolia for encapsulation of peptide fractions with ACE inhibitory activity

Mukthar Sandoval-Peraza^{1,2}, Juan José Acevedo-Fernández¹, Gabriela Castañeda-Corral¹, Jesús Santa-Olalla¹, David Betancur-Ancona², Luis Chel-Guerrero²

¹ Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos, México.

² Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cguerrer@correo.uady.mx (Luis Chel-Guerrero).

Recibido el 15 de febrero de 2019; aceptado el 13 de junio de 2019.

Como citar este artículo:

Sandoval-Peraza M, Acevedo-Fernández JJ, Castañeda-Corral G, Santa-Olalla J, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. Evaluación de la goma de Guazuma ulmifolia para encapsular fracciones peptídicas inhibitorias de la ECA. JONNPR. 2019;4(8):774-84. DOI: 10.19230/jonnpr.3007

How to cite this paper:

Sandoval-Peraza M, Acevedo-Fernández JJ, Castañeda-Corral G, Santa-Olalla J, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. Evaluation of the native gum of *Guazuma ulmifolia* for encapsulation of peptide fractions with ACE inhibitory activity. JONNPR. 2019;4(8):774-84. DOI: 10.19230/jonnpr.3007



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos, ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

Resumen

Objetivo: Evaluar las condiciones óptimas para la encapsulación de fracciones peptídicas de *Vigna unguiculata* (5-3 kDa) con actividad antihipertensiva.

Métodos: La goma nativa de *Guazuma ulmifolia* se obtuvo mediante la hidratación de la semilla y precipitación con alcohol. La composición de monosacáridos se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta resolución. Para el proceso de encapsulación se llevó a cabo un diseño factorial 2³ en donde los factores fueron la concentración de cloruro de calcio (0,5, 1 y 1,5 M), tiempo de endurecimiento (20, 40 y 60 min) y concentración de goma (0,5 1 y 1,5%); la variable respuesta fue la cantidad de proteína encapsulada.



Resultados: La goma nativa de *Guazuma ulmifolia* estuvo compuesta por galactosa, manosa, sacarosa y glucosa. Se observó que las condiciones del diseño experimental no permitieron la encapsulación de fracción peptídica, ya que el rendimiento fue menor al 2%.

Conclusiones: El aumento en la concentración de cloruro de calcio y tiempo de endurecimiento no fueron suficientes para lograr la encapsulación de la fracción peptídica.

Palabras clave

Guazuma ulmifolia; polisacáridos; microencapsulación; HPLC

Abstract

Aim: The aim was to evaluate the optimal conditions for the encapsulation of peptide fractions from *Vigna unguiculate* (5-3 kDa) with ACE inhibitory activity.

Methods: The *Guazuma ulmifolia* native gum was obtained by seed hydration and later precipitation with alcohol. The monosaccharides composition was carried out by high performance liquid chromatography. For the encapsulation process, a factorial design 2^3 was carried out, where the factors were the concentration of calcium chloride (0.5, 1 and 1.5 M), hardening time (20, 40 and 60 min) and gum concentration (0.5, 1 and 1.5%); the response variable was the amount of encapsulated protein.

Results: The native gum from *Guazuma ulmifolia* was composed by galactose, manose, sucrose and glucose. It was observed that the conditions of the experimental design did not allow to encapsulate peptide fraction, since the yield was less than 2%.

Conclusions: It was observed that increase in calcium chloride and hardening time were not enough to achieve the encapsulation of the peptide fraction.

Keywords

Guazuma ulmifolia; polysaccharides; microencapsulation; HPLC

Contribución a la literatura científica

Dentro de las enfermedades crónico-degenerativas que padece la población mexicana se encuentra la hipertensión arterial. Se ha demostrado que los hidrolizados proteicos de fuentes vegetales tienen un efecto positivo frente a la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, reduciendo así los niveles de presión arterial. Para garantizar la acción de estos hidrolizados se ha propuesto su microencapsulación, con el objetivo de protegerlos durante su paso a través del aparato digestivo. En nuestro grupo de trabajo se han utilizado diversas fuentes de polisacáridos no convencionales para la encapsulación de fracciones peptídicas y en estudios previos se observó que la relación de polisacáridos usada en conjunto con factores como la concentración de agente gelificante y el tiempo de endurecimiento aumentan la eficiencia de encapsulación. En este estudio se implementaron los conocimientos previos y se



aumentó la concentración de los factores antes mencionados obteniéndose valores de eficiencia menores al 2%. Lo anterior sienta las bases sobre los factores que no permiten un buen rendimiento en la encapsulación de fracciones peptídicas para futuras investigaciones.

Introducción

Hoy en día es urgente atender de manera práctica y específica los problemas de salud pública que se presentan en la población mexicana, datos epidemiológicos nacionales enfatizan y dan cifras preocupantes de la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles. En México, el 25,5% de los adultos mexicanos padecen hipertensión arterial, por lo que es necesario mejorar las estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento.⁽¹⁾ Factores como la edad, alta ingesta de sodio, inactividad física, dietas con alto contenido de grasas saturadas, tabaquismo, presencia de obesidad, dislipidemias, diabetes, etc., contribuyen al desarrollo de la hipertensión.⁽²⁾

Diversos estudios han demostrado que se pueden obtener péptidos con actividad biológica tanto *in vitro* como *in vivo*; los cuales, se pueden obtener de fuentes proteicas de origen animal o vegetal. Dentro de los efectos benéficos que los péptidos pueden tener en la salud se destacan la reducción en los niveles de presión arterial por inhibición de la ECA, capacidades antimicrobiana y antioxidante, reducción en los niveles de colesterol, capacidad antitrombótica, entre otros. Se han reportado péptidos con actividad inhibitoria de la ECA provenientes de fuentes proteicas como la soya, músculo de pescado, músculo animal, huevo, leche, brócoli, trigo, entre otros.⁽³⁾ En nuestro grupo de trabajo se han obtenido hidrolizados y fracciones peptídicas con efecto antihipertensivo provenientes de fuentes vegetales típicas de la región, destacando leguminosas como: *Phaseolus vulgaris* fresco y endurecido, *Mucuna pruriens*, *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*.

A pesar de los beneficios biológicos que se le atribuyen a los hidrolizados y fracciones peptídicas; así como su fácil producción *in vitro*, es necesario que estos lleguen intactos al sitio de acción, para esto deben preservar su actividad biológica durante el proceso digestivo y su subsecuente absorción.⁽⁴⁾ Para lograr que la bioactividad de estas moléculas se lleve a cabo, puede hacerse uso de la microencapsulación, ya que permite la protección del material encapsulado frente al medio al cual es expuesto. Es importante mencionar que este proceso permite no solo la protección de la sustancia encapsulada, sino también su liberación controlada.⁽⁵⁾ Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones más adecuadas para la encapsulación de fracciones peptídicas de *Vigna unguiculata* (5-3 kDa) con actividad antihipertensiva.



Población y Métodos

Obtención de la goma nativa de *Guazuma ulmifolia*

5 kg de frutos de pixoy (*Guazuma ulmifolia*) fueron recolectados de parques de la zona norte de la ciudad de Mérida, México. La recolección se llevó a cabo antes de la caída del fruto al suelo y posteriormente fueron secados durante 24 h a 50 °C en una estufa de convección. Para la obtención de la goma nativa se procedió a hacer una mezcla de semilla:agua en relación 1:15 (p/v), la cual se mantuvo en agitación durante 4 h a 60 °C por medio de un agitador mecánico (Caframo RZ-1) a 400 rpm, las semillas hidratadas fueron filtradas por medio de una malla de tela tipo tule; luego se llevó a cabo una segunda extracción bajo las mismas condiciones pero en una relación 1:5 (p/v), juntando los sobrenadantes. Posteriormente se llevó a cabo la precipitación de la suspensión con etanol al 95% en relación 1:2 (v/v) y agitación a 500 rpm. Finalmente, la goma precipitada se filtró a través de un papel Watman número 4 y fue secada a 60 °C durante 12 h.

Fracción proteica

La fracción utilizada en este estudio fue previamente separada a partir de la hidrólisis de un concentrado proteico de *Vigna unguiculata* (FPV) por medio de membranas de corte de 5-3 kDa de peso (Millipore, Bedford, MA, US).

Composición proximal

Para la goma nativa de pixoy (GNP) se determinó el contenido de nitrógeno (método 954.01), grasa cruda (920.39), ceniza (923.03), fibra cruda (962.09) y humedad (925.09). Los carbohidratos totales, determinados como extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) se calcularon por diferencia de acuerdo a los métodos establecidos por la AOAC.⁽⁶⁾

Determinación de monosacáridos presentes en la GNP

Para la cuantificación de los monosacáridos se siguió la metodología reportada por Rostro *et al.*⁽⁷⁾ con algunas modificaciones. Se empleó un equipo HPLC marca Agilent 1260 Infinity con detector de índice de refracción (G1362A/DEAA606907) y una columna de plomo Phenomenex RPM-Monosaccharide (00H-0135-K0). El flujo fue de 0,6 ml/min y la temperatura de la columna se mantuvo a 80 °C, como fase móvil se utilizó 100% de agua grado HPLC con azida de sodio (0,02%).



Microencapsulación

Se siguió la metodología propuesta por Sandoval-Peraza, *et al.*⁽⁸⁾ con algunas modificaciones. Se prepararon microcápsulas de GNP en combinación con alginato de sodio (AS) aplicando un diseño factorial 2^3 con 4 tratamientos centrales (Tabla 1), la variable de respuesta fue la cantidad de proteína encapsulada. La relación de GNP:AS utilizada fue de 50:50 (p/p), la cantidad de goma propuesta en el diseño experimental fue dispersada en 150 ml de agua destilada, a esta mezcla se le añadieron 600 mg de FPV y se homogenizaron por medio de un Ultraturrax a 1.000 rpm hasta lograr una mezcla homogénea. Dicha dispersión se pasó a través de una bomba peristáltica (Cole-Palmer, Modelo 7553-70) a una velocidad de 0,17 ml/s con una manguera Masterflex[®] de 2 mm de diámetro interno; la solución se dejó caer gota a gota en una solución de CaCl_2 a una altura de 10 cm para formar las microcápsulas y posteriormente se les dejó endurecer en la solución de acuerdo a los tiempos establecidos en el diseño experimental, corriendo a la par un control sin proteína para cada tratamiento. Por último, las microcápsulas se recuperaron por decantación, se lavaron con agua desionizada y se secaron por liofilización. La cantidad de proteína presente en las microcápsulas se cuantificó por el método Kjeldahl, usando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína de acuerdo a lo reportado por la AOAC.⁽⁶⁾

Tabla 1. Condiciones experimentales para la encapsulación de la fracción peptídica.

Tratamiento	FACTORES		
	A	B	C
	Concentración de goma (%)	Concentración de CaCl_2 (M)	Endurecimiento (min)
1	0,5 (-)	0,5 (-)	20 (-)
2	1,5 (+)	0,5 (-)	20 (-)
3	0,5 (-)	1,5 (+)	20 (-)
4	0,5 (-)	0,5 (-)	60 (+)
5	1,5 (+)	1,5 (+)	20 (-)
6	1,5 (+)	0,5 (-)	60 (+)
7	0,5 (-)	1,5 (+)	60 (+)
8	1,5 (+)	1,5 (+)	60 (+)
9-12 (centrales)	1,0 (0)	1,0 (0)	40 (0)

(+) nivel más alto, (-) nivel más bajo, (0) punto central del tratamiento.



Resultados

Composición proximal

En la Tabla 2 se muestra la composición proximal de la GNP observándose que el E.L.N. fue la fracción de mayor contenido. En estudios previos se ha comprobado que los polisacáridos con alto contenido de E.L.N. dan buen resultado en la encapsulación de moléculas con efecto biológico, en especial con aquellos que tienen actividad antioxidante e inhibitoria de la ECA. ^(8, 9,10)

Tabla 2. Composición de la goma nativa de pixoy.

Composición proximal	g / 100 g
Humedad	9,19 ± 0,06
Proteína	4,20 ± 0,01
Grasa cruda	1,03 ± 0,04
Fibra cruda	0,57 ± 0,03
Cenizas	11,54 ± 0,05
E.L.N.	82,64 ± 0,03
Monosacáridos	g / 100 g de muestra
Sacarosa	1,52 ± 0,08
Glucosa	0,55 ± 0,02
Galactosa	33,41 ± 0,16
Manosa	16,02 ± 0,12

Todos los análisis se hicieron por triplicado.

Perfil de monosacáridos de la GNP

Con respecto a la composición de monosacáridos (Tabla 2), se observó que la galactosa y manosa fueron los de mayor presencia en la GNP. Por lo anterior, este polisacárido podría ser clasificado como un galactomanano, ya que las cantidades de glucosa y sacarosa no exceden el 2%.

Fracción proteica

El hidrolizado proteico proveniente de *Vigna unguiculata* fue obtenido y fraccionado previamente en nuestro laboratorio. Se seleccionó la fracción con peso molecular de 5-3 kDa para ser encapsulada, debido a que presentó la mayor actividad inhibitoria de la ECA ($IC_{50} = 4,28$ mg/ml) en comparación con el hidrolizado total.



Microencapsulación

Todos los tratamientos aplicados según el diseño experimental formaron cápsulas (Tabla 3), siendo más esféricas en los tratamientos 6, 7, 8 y los centrales, dicha tendencia fue observada tanto en los tratamientos con fracción proteica y sus respectivos blancos. En sentido opuesto, los tratamientos 1-4 y sus respectivos blancos mostraron estructuras más irregulares, de tal manera que se pudieron medir los diámetros axial y ecuatorial (Tabla 4). Con respecto a la fracción proteica encapsulada se observó que la cantidad retenida estuvo en un intervalo de 0,61-1,82%, siendo valores muy bajos de encapsulación.

Tabla 3. Morfología de las cápsulas producidas con las condiciones del diseño experimental.

Tratamientos (A)(B)(C)	Control húmedo	Control seco	Tratamiento húmedo	Tratamiento seco
T 1 (-)(-)(-)				
T 2 (+)(-)(-)				
T 3 (-)(+)(-)				
T 4 (-)(-)(+)				
T 5 (+)(+)(-)				
T 6 (+)(-)(+)				
T 7 (-)(+)(+)				
T 8 (+)(+)(+)				
T 9-12 (0)(0)(0)				

(+) indica el nivel más alto, (-) indica el nivel más bajo, (0) indica el punto central. (A) concentración de goma, (B) concentración de CaCl₂, (C) tiempo de endurecimiento.



Tabla 4. Diámetro y contenido proteico encapsulado.

Tratamiento (A)(B)(C)	Diámetro Blancos	Diámetro Tratamientos	Proteína Blancos	Proteína Tratamientos	Proteína total
1 (-)(-)(-)	5,5 x 3,7	5,4 x 3,6	0,74 ± 0,2	2,31 ± 0,6	1,57
2 (+)(-)(-)	5,6 x 3,4	5,6 x 3,8	0,76 ± 0,1	2,54 ± 0,1	1,78
3 (-)(+)(-)	4,9 x 3,0	6,0 x 3,9	0,60 ± 0,0	1,34 ± 0,1	0,73
4 (-)(-)(+)	6,5 x 3,9	5,3 x 3,3	0,27 ± 0,0	1,47 ± 0,1	1,19
5 (+)(+)(-)	4,3	4,1	0,27 ± 0,0	1,32 ± 0,1	1,05
6 (+)(-)(+)	3,8	4,3	0,52 ± 0,0	2,34 ± 0,0	1,82
7 (-)(+)(+)	4,8	4,4	0,22 ± 0,0	1,05 ± 0,0	0,83
8 (+)(+)(+)	3,5	3,3	0,47 ± 0,0	1,10 ± 0,1	0,63
9-12 (0)(0)(0)	3,7	4,0	0,42 ± 0,0	1,04 ± 0,3	0,61

(+) nivel más alto, (-) nivel más bajo, (0) punto central del tratamiento. (A) concentración de goma, (B) concentración de CaCl₂, (C) tiempo de endurecimiento.

Discusión

Composición proximal

Con respecto a la composición proximal de la GNP se observó que el E.L.N. fue la fracción de mayor proporción (82,64%), seguida de las cenizas, proteína, grasa cruda y fibra cruda en orden de concentración. Arias-Trinidad *et al.*⁽¹¹⁾ reportan la misma tendencia de concentración en los componentes de la GNP siendo el E.L.N. el de mayor contenido (81,64%). Puede observarse que compuestos como la proteína y grasa no exceden el 6%, lo cual indica que el proceso de extracción de la goma fue efectivo al no acarrear una cantidad elevada de impurezas.⁽¹¹⁾

Perfil de monosacáridos de la GNP

El perfil de monosacáridos de la GNP identificados por medio del HPLC mostró la presencia de glucosa, sacarosa, manosa y galactosa (0,55, 1,52, 16,02 y 33,41 g/100 g de muestra respectivamente), siendo esta última la de mayor proporción. Arias-Trinidad *et al.*⁽¹¹⁾ reportan la composición para la GNP con una proporción en donde la manosa fue la de mayor contenido (41,9%), seguida de la galactosa (18,7%) y glucosa (7,96%). Puede observarse que la composición en este caso es inversa en comparación a la de este estudio, esto se puede deber al estado de maduración de la semilla, ya que los autores antes mencionados hicieron la



recolección de frutos después de su caída al suelo. Por lo tanto, es posible que este polisacárido sufra cambios en su estructura debido al inicio del proceso de germinación.

Microencapsulación

Se encontró que la GNP no tiene la capacidad de formar microcápsulas por sí sola; por esta razón se optó por realizar mezclas de GNP:AS en relación 50:50 (p:p) al 1% debido a que otros estudios han demostrado que la combinación de polisacáridos en esta relación dan mejores resultados de encapsulación para hidrolizados proteicos.⁽¹⁰⁾ Jaya, Durance y Wang⁽¹²⁾ reportan que la combinación de polisacáridos puede ser una alternativa para la formulación de matrices orales y de liberación controlada de fármacos.

En la encapsulación de fracciones peptídicas (>10 kDa) con goma de chíá y alginato se observó que además de la concentración de goma, factores como la concentración del cloruro de calcio y tiempo de endurecimiento en sus niveles más altos, mejoraron la eficiencia de encapsulación de la fracción peptídica, obteniendo una eficiencia de 44,96% utilizando cloruro de calcio (0,15 M) a 30 minutos de endurecimiento.⁽¹⁰⁾ Nedovic *et al.*⁽¹³⁾ mencionan que cuando se usa alginato, la concentración de cloruro de calcio puede ir de 0,05 a 1,5 M; por lo tanto, se probaron las concentraciones antes mencionadas y adicionalmente se aumentaron los tiempos de endurecimiento a 20, 40 y 60 minutos.

Con las modificaciones antes mencionadas se observó que todos los tratamientos formaron microcápsulas (Tabla 3); sin embargo, la cantidad de proteína encapsulada no superó el 2% de contenido. Esto podría deberse a que los factores de encapsulación seleccionados (CaCl₂ y tiempo) influenciaron negativamente la eficiencia de encapsulación. Arias-Trinidad⁽⁹⁾ reporta un 44% de eficiencia de encapsulación al utilizar CaCl₂ (0,10 M) y 20 minutos de endurecimiento, la relación de gomas GNP:AS fue la misma a la de este estudio (50:50). Posiblemente un factor que pudo haber afectado la eficiencia de encapsulación es la composición de monosacáridos presentes en la GNP utilizada por el autor previamente mencionado. Esto demuestra que la composición de monosacáridos presentes en la GNP posiblemente tenga influencia en la encapsulación de fracción peptídica. Según Srivastava y Kapoor⁽¹⁴⁾ los galactomananos difieren en su relación de manosa/galactosa y esto propicia que se tengan diferentes propiedades químicas y diversas aplicaciones. El tener una relación de manosa/galactosa diferente a la reportada por Arias-Trinidad *et al.*⁽¹¹⁾ posiblemente sea la explicación al porcentaje tan bajo de encapsulación, en conjunto con el cambio realizado en los factores utilizados en este experimento.

Otro aspecto que podría haber influenciado la eficiencia de encapsulación podría ser el peso molecular de la fracción peptídica (5-3 kDa); sin embargo, en la literatura se encuentra la



encapsulación de moléculas más pequeñas con alginato de sodio. Un ejemplo es el trabajo de Jaya, Durance y Wang,⁽¹²⁾ los cuales reportan la encapsulación de ácido acetilsalicílico con la técnica de gelificación iónica, en donde se utilizaron combinaciones de alginato y pectina, CaCl_2 (1 M) y 3-4 horas de endurecimiento, resultando en la encapsulación del fármaco. Cabe resaltar que los autores antes mencionados utilizaron condiciones muy similares a las de este estudio, con la excepción del uso de la pectina. Por otro lado, Yeo, Baek y Park⁽¹⁵⁾ mencionan que las cápsulas formadas con alginatos no tienen la capacidad de retener proteína en su interior durante periodos prolongados, posiblemente ésta sea una explicación al bajo nivel de fracción encapsulada, ya que el tiempo de endurecimiento pudo haber tenido un efecto negativo en la eficiencia de encapsulación al dejar salir de su interior a la fracción peptídica.

Conclusiones

Se esperaba que con las condiciones seleccionadas en el diseño experimental tuvieran un impacto positivo y significativo en la eficiencia de encapsulación de fracciones peptídicas; permitiendo así, una liberación prolongada de dicho compuesto además de proteger su actividad biológica frente al proceso de digestión. Sin embargo, a pesar del aumento en la concentración de cloruro de calcio y tiempo de endurecimiento solo se logró alcanzar un 2% de eficiencia.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Referencias

1. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. ENSANUT 2016. 31 de octubre de 2016.
2. Campos-Nonato, I., Hernández-Barrera, L., Rojas-Martínez, R., Pedroza, A., Medina-García, C., Barquera-Cervera, S. Hipertensión arterial: prevalencia, diagnóstico oportuno, control y tendencias en adultos mexicanos. *Salud Publ. Mex.* 2013; 55: S144-50.
3. Hartmann, R., Meisel, H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr. Opin. Biotech.* 2007; 18: 163-9.



4. Segura-Campos, M., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D., Hernandez-Escalante, V. Bioavailability of bioactive peptides. *Food Rev. Int.* 2011; 27: 213-26.
5. Ahmad, M., Madni, A., Usman, M., Munir, A., Akhtar, N., Shoaib Khan, H. Pharmaceutical microencapsulation technology for development of controlled release drug delivery systems. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 2011; 75: 384-87.
6. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Methods of analysis of association of official analytical chemists.* 16 ed. Washington, AOAC. 1990.
7. Rostro, M., Sánchez-González, M., Rivas, S., Moure, A., Domínguez, H., Parajó, J. Non-isothermal autohydrolysis of nixtamalized maize pericarp: production of nutraceutical extracts. *Food Sci. Technol.* 2014; 58: 550-56.
8. Sandoval-Peraza, M., Betancur-Ancona, D., Gallegos-Tintoré, S., Chel-Guerrero, L. Evaluation of some residual bioactivities of microencapsulated *Phaseolus lunatus* protein fraction with carboxymethylated flamboyant (*Delonix regia*) gum/sodium alginate. *Food Sci. Technol, Campinas.* 2014; 34(4): 680-87.
9. Arias-Trinidad, A. Evaluación de la goma nativa de *Guazuma ulmifolia*, en la encapsulación de fracciones peptídicas con actividad antioxidante de *Phaseolus lunatus*. Mérida, Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. 2018.
10. Sandoval-Peraza, M. Microencapsulación de hidrolizados proteicos de *Phaseolus lunatus* L. con gomas de flamboyán (*Delonix regia bojer* Raf.) y chía (*Salvia hispanica* L.). Mérida, Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. 2015.
11. Arias-Trinidad, A., Sandoval-Peraza, M., Betancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L. Physicochemical and rheological properties of gum from *Guazuma ulmifolia* seeds. *Transylv. Rev.* (pendiente de publicación aceptado 05-julio-2018).
12. Jaya, S., Durance, T.D., Wang, R. Effect of alginate-pectin composition on drug release characteristics of microcapsules. *J. Microencapsul.* 2009; 26(2): 143-53.
13. Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci.* 2011; 1: 1806-15.
14. Srivastava, M., Kapoor, V. Seed galactomannans: an overview. *Chem. Biodivers.* 2005; 2: 295-317.
15. Yeo, Y., Baek, N., Park, K. Microencapsulation methods for delivery of protein drugs. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 2001; 6(4): 213-30.