



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Microencapsulación de componentes bioactivos de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*) mediante secado por aspersión.

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previa la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autora: Diana Carolina Quinaluisa Calvopiña

Tutor: Orestes López Hernández PhD.

Ambato-Ecuador

Agosto 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Orestes Darío López Hernández

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 04 de Mayo de 2018



Orestes López Hernández, PhD

C.I. 1754784864

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Diana Carolina Quinaluisa Calvopiña, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas.



Diana Carolina Quinaluisa Calvopiña

C.I. 0502931918

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los profesores que se encuentran suscritos como calificadores, aprueban el presente trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Dr. Ignacio Ángel Angós Iturgaiz
C.I. 1756978225



Lic. Mg. Danae Fernández Rivero
C.I. 175718120-9

Ambato, 28 de Mayo de 2018

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Diana Carolina Quinaluisa Calvopiña
C.I. 0502931918
AUTORA

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mis padres, hermana y en especial a mi hija Paula, quienes con cariño y paciencia me han motivado y acompañado a lograr cada una de mis metas.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Orestes López, por su paciencia y apoyo durante el desarrollo del trabajo de titulación.

Al Dr. Ignacio Angós, por su apoyo, tiempo y motivación para la culminación del presente trabajo.

Al Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) por las facilidades brindadas para el desarrollo de la parte experimental. A Bladimir, Carmita, Eder, Rocío, Sory, Verito, Pedro, David y Mely por la ayuda brindada y su valiosa amistad.

Al Dr. Iván Samaniego por los conocimientos adquiridos, amistad y tiempo para la ejecución del trabajo de investigación.

A la Ing. Wilma Llerena por su tiempo y constancia durante todo el proyecto

ÍNDICE GENERAL PÁGINAS PRELIMINARES

PORTADA.....	I
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	II
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	III
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO	IV
DERECHOS DE AUTOR.....	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTOS	VII
ÍNDICE GENERAL.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.- EL PROBLEMA.....	3
1.1 TEMA.....	3
1.2 JUSTIFICACIÓN	3
1.3 OBJETIVOS	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO	5
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	5
2.2 ARAZÁ	6
2.2.1 Características Generales.....	6
2.2.2 Factores de manejo de cosecha y postcosecha que afectan la calidad.....	7
2.3 MICROENCAPSULACIÓN.....	8
2.3.1 Generalidades.....	8

2.3.2 Microencapsulación mediante secado por aspersión	9
2.4 HIPÓTESIS	9
2.4.1 Hipótesis nula	9
2.4.2 Hipótesis alternativa	9
2.5 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS	10
CAPÍTULO III.- MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1 MATERIALES	11
3.1.1 Materia prima.....	11
3.1.2 Materiales de laboratorio	11
3.1.3 Equipos de laboratorio	11
3.1.4 Reactivos.....	12
3.2 MÉTODOS	12
3.2.1 Extracción de bioactivos	12
3.2.2 Concentración de sólidos totales.....	13
3.2.3 Determinación de sólidos totales	13
3.2.4 Microencapsulación.....	13
3.2.5 Rendimiento de la microencapsulación	13
3.2.6 Polifenoles totales	13
3.2.7 Flavonoides totales	14
3.2.8 Cuantificación de vitamina C	15
3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	15
CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	16
4.1.1 Polifenoles totales	16
4.1.1.1 Adaptación del método para análisis de polifenoles totales.....	16
4.1.1.1.1 Linealidad	16
4.1.1.1.2 Precisión	17
4.1.1.1.3 Exactitud.....	18
4.1.1.2 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de polifenoles totales.....	18
4.1.1.3 Selección del mejor tratamiento para el contenido de polifenoles totales	22

4.1.2 Flavonoides totales	22
4.1.2.1 Adaptación del método para análisis de flavonoides totales.....	22
4.1.2.1.1 Linealidad	22
4.1.2.1.2 Precisión	23
4.1.2.1.3 Exactitud.....	24
4.1.2.2 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de flavonoides totales.....	25
4.1.2.3 Selección del mejor tratamiento para el contenido de flavonoides totales	28
4.1.3 Cuantificación de vitamina C	29
4.1.3.1 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de vitamina C	29
4.1.3.2 Selección del mejor tratamiento para el contenido de vitamina C.....	32
4.1.4 Contenido de sólidos totales en el extracto de pulpa de arazá.....	32
4.1.5 Rendimiento del microencapsulado de pulpa de arazá.....	33
4.1.6 Análisis de los resultados obtenidos en el microencapsulado de componentes bioactivos de arazá.....	33
4.1.6.1 Análisis de polifenoles totales.....	34
4.1.6.2 Análisis de flavonoides totales.....	34
4.1.6.3 Análisis de la cuantificación de vitamina C.....	35
4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS	35
CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	35
5.1 CONCLUSIONES	35
5.2 RECOMENDACIONES	36
BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos a emplear para la extracción de bioactivos	12
Tabla 2. Resultados del análisis de regresión lineal para la validación del método de polifenoles totales en arazá	16
Tabla 3. Resultados del estudio de precisión del método de análisis de polifenoles totales de muestra liofilizada de pulpa de arazá	17
Tabla 4. Contenido de polifenoles totales en las extracciones de pulpa de arazá (<i>Eugenia stipitata</i>).....	19
Tabla 5. Análisis de varianza para polifenoles totales	19
Tabla 6. Rendimiento de extracción de polifenoles totales en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados	22
Tabla 7. Resultados del análisis de regresión lineal para la validación del método de flavonoides totales en arazá.....	23
Tabla 8. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales de muestra liofilizada de pulpa de arazá.....	24
Tabla 9. Contenido de flavonoides totales en las extracciones de pulpa de arazá (<i>Eugenia stipitata</i>).....	25
Tabla 10. Análisis de varianza para flavonoides totales	26
Tabla 11. Rendimiento de extracción de flavonoides totales en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados	28
Tabla 12. Contenido de vitamina C en las extracciones de pulpa de arazá (<i>Eugenia stipitata</i>)	29
Tabla 13. Análisis de varianza para vitamina C	30
Tabla 14. Rendimiento de extracción de vitamina C en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados	32
Tabla 15. Contenido de compuestos bioactivos en microencapsulado (ME) de pulpa de arazá (<i>Eugenia stipitata</i>)	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Carta de cambio de color del fruto de arazá durante la maduración.	7
Figura 2. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales	17
Figura 3. Porcentaje de extracción de polifenoles totales en muestra liofilizada de arazá, en función del ciclo de extracción.....	18
Figura 4. Interacción entre la variable relación pulpa-agua y tiempo en la extracción de polifenoles totales	20
Figura 5. Interacción entre la variable relación y temperatura en la extracción de polifenoles totales.....	20
Figura 6. Interacción entre la variable temperatura y tiempo en la extracción de polifenoles totales.....	21
Figura 7. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales	23
Figura 8. Porcentaje de extracción de flavonoides totales en muestra liofilizada de arazá	25
Figura 9. Interacción entre la variable relación y tiempo en el contenido de flavonoides totales	26
Figura 10. Interacción entre las variables relación y temperatura en el contenido de flavonoides totales.....	27
Figura 11 . Interacción entre la variable temperatura y tiempo en el contenido de flavonoides totales.....	27
Figura 12. Medidas repetidas de vitamina C para el cálculo de la precisión del método de cuantificación en pulpa liofilizada de arazá.....	29
Figura 13. Interacción entre la variable relación y tiempo en el contenido de vitamina C	30
Figura 14. Interacción entre la variable relación y temperatura en el contenido de vitamina C	31
Figura 15. Interacción entre la variable temperatura y tiempo en el contenido de vitamina C extraída de la pulpa de arazá	31

RESUMEN

El contenido de antioxidantes, previene las enfermedades cardiovasculares. El arazá al ser fuente de minerales esenciales y vitaminas A, B₁ y C, es un complemento alimenticio que regula y equilibra el funcionamiento del organismo. El secado por aspersión ayuda a la protección de compuestos que presentan actividad antioxidante y evita las reacciones de oxidación.

El objetivo de la presente investigación fue microencapsular los componentes bioactivos del arazá, mediante secado por aspersión, para preservar los compuestos del fruto sin alterar sus propiedades nutricionales y de esta manera promover el consumo de antioxidantes entre los consumidores.

Se emplearon diferentes condiciones de extracción con la finalidad de detectar el extracto con mayor contenido de compuestos bioactivos. Estas condiciones fueron: relación 1:15 pulpa: agua; tiempo de contacto de 60 minutos y temperatura de trabajo de 100 °C. Bajo estas condiciones se obtuvo una mayor cantidad de polifenoles, flavonoides y vitamina C. A partir de ello se concentró el extracto, incrementando significativamente la cantidad de sólidos totales. Para la microencapsulación se utilizó maldodextrina como agente encapsulante, en igual proporción de sólidos totales que el concentrado. Se efectuó el secado a una temperatura de entrada de 140 °C y de salida de 80 °C, donde se obtuvo un rendimiento del 75,42 %. Una vez obtenido el microencapsulado, se determinó la cantidad de compuestos bioactivos presentes, obteniéndose los siguientes resultados por cada 100 g: 1562,65 mg AG (equivalente de polifenoles totales); 229,84 mg catequina (equivalente de flavonoides totales) y 202,23 mg ác. ascórbico (equivalente de vitamina C).

Palabras clave: microencapsulación, componentes bioactivos, secado por aspersión, arazá, antioxidantes.

ABSTRACT

The content of antioxidants prevents cardiovascular diseases. Araza fruit is an source of essential minerals and vitamins A, B₁ and C, because of that, it is also a food supplement that regulates and balances the functioning of the body. Moreover, spray drying helps to protect compounds that have antioxidant activity and to prevent oxidation reactions.

The aim of the present investigation was to microencapsulate the bioactive components of araza using spray drying in order to preserve the fruit compounds without altering their nutritional properties and in this way, to promote the consumption of antioxidants among the consumers.

Different extraction conditions were used for detecting the extract with the highest content of bioactive compounds. These conditions were: ratio 1:15 pulp: water; contact time of 60 minutes and working temperature of 100 °C. Under these conditions, a greater amount of polyphenols, flavonoids and vitamin C were obtained. Starting from this, the extract was concentrated, increasing significantly the amount of total solids. For microencapsulation, malodextrin was used as an encapsulating agent, in the same proportion of total solids as the concentrate. The drying was carried out at an inlet temperature of 140 ° C and an outlet temperature of 80 ° C, where a yield of 75.42% was obtained. Once the microencapsulation was acquired, the amount of bioactive compounds present was determined, getting the following results per 100g: 1,562.65 mg ac. gallic (equivalent of total polyphenols); 229.84 mg catechin (equivalent of total flavonoids) and 202.23 mg ac. ascorbic (equivalent of vitamin C).

Key words: microencapsulation, bioactive components, spray drying, araza, antioxidants

INTRODUCCIÓN

Las frutas tropicales de la región amazónica han adquirido relevancia en los últimos tiempos, por los hallazgos sobre los efectos positivos en la salud de quienes las consumen, estableciendo una importante alternativa productiva para la región **(Hernández y Barrera, 2004a)**. El arazá es una de estas frutas, que se caracteriza por su adaptación a los suelos pobres y ácidos propios de esta región y por sus propiedades organolépticas, como sabor y aroma, y especialmente por su contenido nutricional, ya que ha demostrado tener una buena capacidad antioxidante **(Mejía et al., 2006)**. Estos compuestos antioxidantes al atrapar radicales libres, tienen acciones antialérgicas, antitumorales, antiinflamatorias y reducen el peligro de padecer enfermedades coronarias y degenerativas, beneficiando así a las personas que lo consumen **(Pokorny et al., 2001)**.

El arazá tiene múltiples beneficios, sin embargo, presenta ciertos inconvenientes: tiende a sufrir daños mecánicos precipitados durante su postcosecha y su vida útil es demasiado corta. Cuando se almacenan a una temperatura de 20 °C, los frutos verdes maduros después de una semana alcanzan su madurez sensorial y varios días después empieza a disminuir la calidad sensorial, presentando un ablandamiento excesivo y un oscurecimiento en la piel, generando grandes pérdidas, lo que perjudica directamente a proveedores y consumidores en general **(Narváez-Cuenca et al., 2015)**.

Con el fin de conservar en óptimas condiciones el fruto, se ha buscado la manera de reducir la pérdida de peso, evitar el pardeamiento enzimático, el ablandamiento y en general el deterioro de las características organolépticas, extendiendo y manteniendo una vida de anaquel adecuada **(Narváez-Cuenca, 2003)**.

Una técnica adecuada para preservar las propiedades nutricionales del fruto de arazá sin modificar notoriamente sus propiedades es la microencapsulación, tecnología que permite el envasado de materiales sólidos, líquidos y gases en pequeñas partículas mediante un recubrimiento o material microencapsulante, enmascarando olores y sabores desagradables. Este proceso crea barreras entre los materiales bioactivos sensibles y el medio ambiente **(Nazzaro et al., 2012)**. Los materiales de la pared de las microcápsulas, que pueden ser gomas arábicas, almidones hidrolizados o emulsionantes, protegen la sustancia contra los efectos ambientales (oxígeno, luz,

humedad, etc.), mejorando así su estabilidad, condiciones de manejo y aceptabilidad general (**Loksuwan, 2007a**).

Dentro de los métodos de microencapsulación, el secado por aspersion es el más utilizado en la industria alimentaria, ya que ofrece múltiples ventajas sobre otros métodos como la liofilización, incluyendo un bajo costo operativo, capacidad para manejar materiales sensibles al calor, una operación confiable, equipos fácilmente disponibles, mejora de la estabilidad del producto y capacidad para controlar el tamaño medio de las partículas (**Kaushik et al., 2015**). Además, evita el riesgo de degradaciones químicas y biológicas al obtener un producto con propiedades específicas como solubilidad instantánea (**Esquivel González et al., 2015**).

CAPÍTULO I.- EL PROBLEMA

1.1 TEMA

Microencapsulación de componentes bioactivos de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*) mediante secado por aspersión.

1.2 JUSTIFICACIÓN

La carencia de antioxidantes y vitaminas, en especial A, C y B₁, ha sido la causa principal del desarrollo de múltiples enfermedades cardiovasculares. Diversos estudios han demostrado que la ingesta de frutas con altos niveles de compuestos bioactivos y elevada Capacidad Total Oxidante (CTA), permiten combatir estos problemas de salud, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares entre un 4 y 7 % por cada porción adicional de fruta (**Andari, 2009**).

Una de las frutas más prominentes que podrían suscitar acciones positivas en la salud es el arazá, fruto climatérico que tiene una alta cantidad de compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides y vitamina C, que atrapan radicales libres, generando así una acción antioxidante cuyos componentes nutricionales ofrecen un gran beneficio potencial para la salud de las personas que lo consuman regularmente en la dieta. Sin embargo, el arazá tiene una alta cantidad de agua (95 %) y una elevada tasa respiratoria, que hace que el tiempo de vida útil sea muy corto (de 3 a 5 días aproximadamente). Una vez que ha alcanzado la madurez, la textura de la fruta se torna blanda, es más propensa al ataque de plagas y pérdida de aromas y resulta susceptible a daños mecánicos por no tener un tejido de sostén, dificultando considerablemente el consumo y transporte de esta fruta (**Hernández et al., 2006**). Se han reportado daños en postcosecha totales de 50 a 80 % (**Hernández et al., 2007**).

Surge entonces la necesidad de alargar el tiempo de vida útil de este fruto, sin perder sus propiedades nutritivas y sensoriales mediante el secado por aspersión, tecnología que permite conservar de mejor manera los compuestos bioactivos del alimento, mediante el cual, ciertas sustancias bioactivas son introducidas en una matriz o sistema polimérico matricial, con el propósito de impedir su pérdida, mejorar la estabilidad, evitar reacciones de oxidación, incluso enmascarar el sabor de los ingredientes lipídicos (**López-Hernández et al., 2009**). Además, sirven para proteger al producto

de la luz y el oxígeno, factor que promueve y facilita el almacenamiento, manipulación, producción, exportación y transporte del arazá.

La fruta microencapsulada puede ser utilizada como aditivo alimentario, suplemento vitamínico, entre otros, beneficiando tanto a proveedores como a consumidores en general.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Microencapsular los componentes bioactivos de pulpa de arazá mediante secado por aspersion.

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar las condiciones de extracción de los polifenoles, flavonoides y vitamina C (componentes bioactivos) presentes en el arazá.
- Establecer los parámetros de operación que proporcionan la extracción con la mayor cantidad de compuestos bioactivos presentes en el arazá.
- Microencapsular mediante secado por aspersion empleando maltodextrina los componentes bioactivos de arazá.
- Determinar la cantidad de componentes bioactivos presentes en el microencapsulado de arazá.

CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La alimentación y la nutrición han sido tendencia de investigaciones constantes en los últimos años, tomando en cuenta la calidad de los alimentos que se consumen en relación a los beneficios que brindan a la salud del consumidor. Es así como surge la inclinación hacia los alimentos que contienen compuestos bioactivos, ya que agregan beneficios más allá de lo nutricional, previniendo enfermedades de importancia como cardiovasculares y crónicas (**Diaz et al., 2017**).

Trabajos realizados anteriormente han demostrado que la pulpa de arazá presenta propiedades antioxidantes que ayudan a prevenir enfermedades neurodegenerativas, puesto que eliminan sustancias potencialmente nocivas y generadoras de desórdenes en el ser humano. **Llerena (2014)**, analizó la cantidad de antioxidantes presentes en el fruto de arazá variedad INIAP, comprobando una alta capacidad antioxidante en el fruto, con valores de polifenoles totales y vitamina C de: $3.507,79 \pm 1.430,36$ mg de ácido gálico/100 g ms y $427,74 \pm 78,83$ mg de ácido ascórbico/100 g ms respectivamente.

Mejía, et al. (2006), determinaron la capacidad antioxidante durante el almacenamiento congelado de la pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). Se evaluaron los efectos en los compuestos antioxidantes. En el primer mes la capacidad antioxidante permaneció casi invariable, el contenido de ácido ascórbico fue de 22 mg por 100 g en base húmeda, representando tan sólo el 59 % de su valor inicial. El contenido de compuestos fenólicos totales expresados como ácido gálico fue de 51 mg/100 g en base húmeda, representando el 96 % de su concentración inicial.

Peña et al. (2011), han trabajado en investigaciones anteriores con tratamientos de postcosecha, estudiando diferentes técnicas para conservar el fruto de arazá en fresco, entre ellas se encuentran tratamientos con calor por un tiempo determinado, cloruro de calci y almacenamiento refrigerado. En los tratamientos que fueron sometidos a refrigeración con temperaturas de 13, 12, 10 y 7 °C, se comprobó que el arazá es un fruto sensible y puede verse afectado a temperaturas inferiores de 12 °C y por tiempos de conservación superiores a siete días. No obstante, la temperatura de almacenamiento del fruto puede disminuir si se encuentra protegido por una película, mediante diversos métodos. Cabe mencionar que temperaturas inferiores a 8 °C

ocasionan daños irreversibles por frío si no se cumplen con estándares de almacenamiento adecuados.

La microencapsulación con el fin de mejorar las propiedades y características de los alimentos, ha sido utilizada por la industria de alimentos desde hace más de 60 años. A partir de ello, la microencapsulación de componentes bioactivos mediante secado por aspersión se ha convertido en un proceso de gran interés, ya que disminuye la formación de radicales libres, ayuda a la conservación y protección de ingredientes sensibles a daños ambientales (Ahmed et al., 2010).

No existen estudios de microencapsulación de compuestos bioactivos de arazá, sin embargo, existen investigaciones sobre otros productos que, al igual que el arazá, tienen un alto contenido de compuestos antioxidantes, como el mortiño. Guerra (2017) microencapsuló compuestos bioactivos de mortiño, donde evaluó el contenido de polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante de tres muestras de mortiño de diferentes lugares de origen. Demostró que la microencapsulación ayuda a una mejor conservación de los compuestos bioactivos y a conservar sus propiedades nutricionales al máximo, logrando una eficiencia del 78 % al 81 %. Además, obtuvo un contenido de polifenoles de 1.536,36 mg de ácido gálico. En cuanto a antocianinas, reportó un valor de 3.276,46 mg de cloruro de cianidina-3-glucósido. Para flavonoides, obtuvo un promedio de 3.189,17 mg de catequina y en lo que respecta a capacidad antioxidante obtuvo un valor de 3.521,74 mg de Trolox. Todos los valores fueron expresados por 100 g de microencapsulado. Demostró así que el fruto, al contener altos contenidos de antioxidantes, es idóneo para el consumo diario en una dieta regular.

2.2 ARAZÁ

2.2.1 Características Generales

El arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), presenta por lo general dos subespecies: *Stipitata* (Brasil, Ecuador y Perú) y *Sosoria* (Perú). Se desarrolla en suelos profundos, ácidos (pH que oscilan de 4,5 a 5,5) y con un buen drenaje. Requiere un clima con temperaturas entre 18 °C y 30 °C y precipitaciones pluviales de 1.500 a 4.000 mm·año⁻¹ (INIAP 2014).

El fruto de arazá es una baya esférica achatada con un diámetro longitudinal de 7 cm hasta 12 cm de diámetro transversal, teniendo una apariencia globosa cóncava o

esférica (Hernández y Barrera, 2004b). Es una fruta climatérica muy perecedera de maduración rápida, con producción moderada de etileno y una vida útil postcosecha de menos de 5 días a 20 °C. En la etapa de madurez el fruto tiene una piel amarillo anaranjada y con textura suave, con una vida útil de la fruta que no supera las 72 h (Hernández et al., 2009). El cambio de color durante la maduración de puede observar en la Figura 1.



Figura 1. Carta de cambio de color del fruto de arazá durante la maduración.

Grado 1: inmaduro, color verde oscuro, leve modificación a tonalidad mate. Grado 2: verde-maduro, color verde claro sin brillo. Grado 3: pintón, color verde con 10-25 % de color amarillo. Grado 4: pintón $\frac{3}{4}$, color amarillo en más del 50 % del fruto. Grado 5: maduro, color amarillo en el 100 % de la superficie del fruto. Grado 6: sobre maduro, color amarillo oscuro, fruto blando. **Fuente:** (Hernández, et al., 2006).

2.2.2 Factores de manejo de cosecha y postcosecha que afectan la calidad

En lo que concierne a la cosecha, las condiciones climáticas son críticas para la producción de fruta de óptima calidad. Los aspectos externos de la fruta y su susceptibilidad a plagas antes de la cosecha se ven particularmente afectados, por lo que la mayoría de proveedores utilizan ciertos químicos para destruir posibles amenazas.

El principal factor que afecta considerablemente la producción de arazá es la precipitación, mientras que la humedad relativa y temperatura tienen un impacto

secundario en lo que se refiere a la floración y fructificación (**Cuellar et al., 2013b**). Hay que tomar en cuenta que si los factores mencionados son constantes y la precipitación anual oscila entre 200 y 300 mm·mes⁻¹, el árbol produce frutos de gran volumen y coloreados. De lo contrario, la fruta es expuesta a ser atacada por plagas como la mosca de la fruta y antracnosis durante el crecimiento (**Fernández-Trujillo et al., 2011**).

En lo que se refiere a postcosecha el factor que influye principalmente es el manejo de temperatura. Al no contar con tecnologías de pre-enfriamiento en los sitios de producción, debe mantenerse el fruto tanto como sea posible a la sombra y transportarse en la noche desde las áreas de producción hasta el destino final (**Roges et al., 2004**).

El daño mecánico es el problema más crítico para mantener en adecuadas condiciones el fruto de arazá. La alta susceptibilidad a tal daño se ve influenciada por un ablandamiento rápido, la ausencia de sostén y probablemente por un bajo contenido de materia seca (**Hernández, et al., 2007**).

La pérdida de agua es el segundo problema crítico del arazá, especialmente en frutos almacenados a más de 18 °C en una atmósfera con una humedad relativa baja, alcanzando pérdidas de peso de hasta un 20 % a las temperaturas de maduración más altas en menos de una semana. En cuanto a la tolerancia al dióxido de carbono, se recomiendan niveles menores al 6-10 %, con un rango de oxígeno del 10 al 20,9 %, pero sin sobrepasar de 10 a 15 días a temperaturas próximas a 10 °C (**Gallego et al., 2002**).

2.3 Microencapsulación

2.3.1 Generalidades

La microencapsulación es una tecnología que permite el empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos y gaseosos. Ha sido de gran interés en la industria farmacéutica, especialmente en la industria alimentaria. Según **Figuroa Martínez et al. (2016)**, los productos microencapsulados están protegidos contra agentes externos como son el oxígeno y la humedad, aumentando significativamente la vida útil del producto, los cuales pueden ser almacenados durante tiempos prolongados sin afectar

su apariencia y composición, además de mencionar que la microencapsulación puede eliminar sabores y olores indeseables.

El propósito de la microencapsulación es atrapar ingredientes sensibles como sabores volátiles y lábiles, reduce la evaporación, ofrece protección y por ende promueve más fácilmente la manipulación y control del producto (**Bringas-Lantigua et al., 2011**).

2.3.2 Microencapsulación mediante secado por aspersión

Entre varias técnicas de encapsulación, el secado por aspersión o pulverización es la más común en la industria alimentaria (**Turchiuli et al., 2005**). Por medio de una cámara de secado el producto final (polvo seco) se obtiene mediante la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente, siendo así el agua se evapora súbitamente, permitiendo así que el producto activo presente en la emulsión, quede atrapado dentro de una película de material encapsulante (**López-Hernández, 2010**).

El secado ocurre durante su caída en el fondo de la cámara por el contacto con el aire de secado que fluye en contracorriente. Las gomas arábicas, almidones hidrolizados y emulsionantes se usan con mayor frecuencia como materiales de pared, ya que proporcionan una emulsión estable durante el secado, evitando de esta manera la oxidación (**Loksuwan, 2007b**).

Una de las múltiples ventajas que ofrece este método de microencapsulación, aparte de su simplicidad, es que es ideal para materiales muy volátiles y sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s) (**López-Hernández, 2010**).

2.4 HIPÓTESIS

2.4.1 Hipótesis nula

Ninguno de los ocho tratamientos de extracción de pulpa de arazá estudiados influye en el contenido de compuestos bioactivos de los microencapsulados.

2.4.2 Hipótesis alternativa

Al menos alguno de los ocho tratamientos de extracción de pulpa de arazá, influye en el contenido de compuestos bioactivos de los microencapsulados.

2.5 Señalamiento de variables de la hipótesis

Variables independientes (factores):

Condiciones de extracción de componentes bioactivos de pulpa de arazá que son:

- Temperatura de contacto
- Relación (pulpa/agua)
- Tiempo de trabajo

Variables dependientes:

Cantidad de compuestos bioactivos al final de cada tratamiento de extracción:

- Polifenoles totales (PT)
- Flavonoides totales (FT)
- Vitamina C

CAPÍTULO III.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materia prima

Para la ejecución del trabajo de investigación, se trabajó con arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), en estado de madurez grado 5 de acuerdo a **Hernández, et al. (2006)**, recolectado directamente en la localidad de Coca, en la provincia de Francisco de Orellana.

3.1.2 Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitación de 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Tubos de ensayo
- Balones de aforo de 25, 50, 100, 250 y 500 mL
- Probetas de 10, 250, 500 y 1000 mL
- Tubos de centrifuga de 15 y 50 mL
- Espátula
- Agitadores magnéticos
- Termómetro
- Micropipetas 100-1000 μ L y 1-10 mL
- Puntas para micropipeta 100-1000 μ L y 1-10 mL
- Pissetas
- Gradillas
- Frascos de vidrio color ámbar

3.1.3 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica Mettler Toledo XPE204.
- Vórtex
- Mistral Multimixer Lab line
- Reflectómetro RQflex
- Plancha de calentamiento Fisher Scientific
- Electroagitador Thomas
- Rotoevaporador IKA
- Mini Spray Dryer BÜCHI B290

- Balanza de humedad Citizen
- Centrifuga Sweden, diámetro 7 cm
- Espectrofotómetro SHIMADZU UV-Visible 2600
- Baño ultrasónico Cole Parmer
- Baño María

3.1.4 Reactivos

- Metanol (grado analítico 99,9 %)
- Acetato de potasio (pureza 99 %)
- Nitrito de sodio (pureza 99 %)
- Cloruro de aluminio (pureza 99 %)
- Hidróxido de sodio (pureza 99 %)
- Ácido gálico (pureza 98 %)
- Folin-Ciocalteu, grado analítico
- Carbonato de sodio anhidro (pureza 100 %)
- Agua destilada

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Extracción de bioactivos

Para la extracción se analizaron varios tratamientos, con el fin de microencapsular el mayor contenido de polifenoles, flavonoides y vitamina C.

Tabla 1. Tratamientos a emplear para la extracción de bioactivos

Tratamiento	Relación (pulpa/agua)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	1:15	30	80
2	1:20	30	80
3	1:15	60	80
4	1:20	60	80
5	1:15	30	100
6	1:20	30	100
7	1:15	60	100
8	1:20	60	100

Se empleó un electroagitador (Thomas, 120 V, Pensilvania, U.S.A) con una plancha de calentamiento (Fisher Scientific). Siguiendo la relación 1 g pulpa con 15 o 20 g de agua.

3.2.2 Concentración de sólidos totales

Se utilizó un rotoevaporador (IKA, RV8, Alemania) a 200 rpm y 60 °C y se concentró la extracción hasta tener aproximadamente 7-10 % de sólidos totales, se calculó a partir de la ecuación 1

$$V_{t1} * ST_1 = V_{t2} * ST_2 \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde: V_{t1} es el volumen total del extracto a concentrar (mL), ST_1 es el contenido de sólidos totales del extracto a concentrar (%), V_{t2} volumen a obtener de la concentración (mL), ST_2 sólidos totales a obtener (10 %).

3.2.3 Determinación de sólidos totales

Para la determinación de sólidos totales se colocó aproximadamente 5 mL del extracto en una balanza de humedad (Citizen, Estados Unidos). Después de cierto tiempo se obtuvo la humedad de la muestra. Aplicando la siguiente fórmula se obtuvo la cantidad de sólidos totales.

$$\%ST = 100 - \%H \quad \text{Ec. 2}$$

3.2.4 Microencapsulación

Se empleó como agente encapsulante maltodextrina (MD) en relación a la cantidad de sólidos totales. La extracción concentrada con maltodextrina fue sometida a una agitación constante con la ayuda del electroagitador (Thomas, 120 V, Pensilvania, Estados Unidos) hasta su completa solubilización. La mezcla fue llevada a un secador por aspersion (BÜCHI B-290, Alemania), donde se trabajó con una temperatura de entrada de 140 °C y de salida de 80 °C.

3.2.5 Rendimiento de la microencapsulación

El rendimiento de la microencapsulación se determinó en base a los sólidos totales y el peso final del microencapsulado, como se indica en la ecuación 3.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso final del microencapsulado}}{\text{Peso de sólidos totales}} * 100 \quad \text{Ec. 3}$$

3.2.6 Polifenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se fundamentó en el método reportado por Espín y Samaniego (2016). Se pesaron aproximadamente de 1,0 a 1,4 g del

microencapsulado de arazá en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), por triplicado. Se preparó una solución de extracción compuesta por metanol, agua y ácido fórmico (70/30/0,1, v/v) con el fin de extraer todos los compuestos de la muestra. Esta solución se añadió en cada tubo para luego llevarlos a un vórtex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos) por cierto tiempo. Posteriormente se colocaron en el baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Alemania) y seguidamente se introdujeron los tubos en una centrifuga (Damon IEC, Serie 04938; Estados Unidos). Las extracciones realizadas se recolectaron en un balón. Del balón se tomó una alícuota, se añadió agua destilada, se agregó una mínima cantidad del reactivo Folin-Ciocalteu, se dejó reposar por un tiempo corto y reaccionó con carbonato de sodio. Finalmente, los tubos se introdujeron en un baño maría (Memmert WNB7-45; Schwabach, Alemania), obteniéndose una coloración azulada. Las muestras se analizaron en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600; Kyoto, Japón) midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm. Una vez obtenidos los valores, se aplicó la ecuación 4 para determinar el contenido de polifenoles totales.

$$PT = \frac{A-b}{a} * \frac{Ve}{Pm} * FD * 100 \quad \text{Ec. 4}$$

Dónde: PT es el contenido de polifenoles totales en mg/100 g de muestra; A es la absorbancia, b y a son, respectivamente, el intercepto y la pendiente de la curva de calibración; Ve es el volumen del extracto (mL); Pm es el peso de la muestra (g); y FD es el factor de dilución.

3.2.7 Flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides totales se empleó el método descrito por **Huang et al. (2006)**. Se pesaron aproximadamente de 1,0 a 1,4 g del microencapsulado de arazá en una balanza analítica (Shimadzu libror, AEG-220; Kyoto, Japón), por triplicado. Se preparó una solución de extracción compuesta por metanol, agua y ácido fórmico (70/30/0,1, v/v), con el fin de extraer todos los compuestos de la muestra. Esta solución se añadió en cada tubo para luego llevarlos al vórtex (Mistral 4600, Multi-Mixers; Illinois, Estados Unidos) por cierto tiempo. Posteriormente se colocó en el baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892- MTH; Alemania) y seguidamente se introdujeron los tubos en la centrifuga (Damon IEC, Serie 04938; Estados Unidos). Las extracciones realizadas se recolectaron en un balón. Del balón se tomó una alícuota, se añadió agua destilada, nitrito de

sodio y cloruro de aluminio, se dejó reposar por cierto tiempo y reaccionó con hidróxido de sodio, obteniéndose una coloración anaranjada. Las muestras se analizaron en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2600; Kyoto, Japón) midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm. Una vez obtenidos los valores, se aplicó la ecuación 5 para determinar el contenido de flavonoides totales.

$$FT = \frac{A-b}{a} * \frac{Ve}{Pm} * FD * 100 \quad \text{Ec. 5}$$

Dónde: FT es el contenido de flavonoides totales en mg/100 g de muestra; A es la absorbancia, b y a son, respectivamente, el intercepto y la pendiente de la curva de calibración; Ve es el volumen del extracto (mL); Pm es el peso de la muestra (g); y FD factor de dilución

3.2.8 Cuantificación de vitamina C

La cuantificación de vitamina C se realizó por reflectometría, aplicando un test de ácido ascórbico comercial Reflectoquant®, siguiendo la metodología realizada por **Llerena (2014)**. Se pesó aproximadamente de 0,3 a 1,4 g del microencapsulado de arazá, se añadieron de 5-10 mL de agua destilada, se agitó por 10 minutos, se introdujeron las tiras de vitamina C en cada tubo alrededor de 2 segundos y se realizó la lectura directamente en el reflectómetro (RQflex). Finalmente, se registraron los datos obtenidos. Para obtener el contenido de vitamina C se empleó la ecuación 6.

$$Vit C = \text{Valor en el reflectómetro (mg/L)} * \frac{Vt}{Pm} * 100 \quad \text{Ec. 6}$$

Donde: Vt es el volumen total del extracto (mL) y Pm el peso de la muestra (g).

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño empleado consistió en un arreglo factorial, con tres factores: relación pulpa/agua, tiempo de contacto y temperatura de trabajo, cada uno con dos niveles, lo que constituyó un experimento con $2^3=8$ tratamientos, realizados por triplicado. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion XVII, empleando un análisis de varianza multifactorial y el test de comparación de medias de Tukey, con un grado de significancia del 5 %.

CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1.1 Polifenoles totales

4.1.1.1 Adaptación del método para análisis de polifenoles totales

Para el análisis de polifenoles totales se procedió a la extracción de analitos de arazá, utilizando la metodología descrita en el Capítulo anterior. La cuantificación se efectuó por reacción de color con el reactivo de Folin-Ciocalteu sobre una curva de calibración realizada con un set de estándares de ácido gálico.

4.1.1.1.1 Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un set de estándares de ácido gálico con concentraciones entre 0 y 100 ppm, las mismas se llevaron a cabo por triplicado, en tres días diferentes. Consecutivamente se realizó el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 2, se indican los resultados obtenidos.

Tabla 2. Resultados del análisis de regresión lineal para la validación del método de polifenoles totales en arazá

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0117
Lo (ordenada al origen)	0,0789
R ²	0,9995
t _{obtenido}	82,64
t _{tabla}	2,78

A través de los resultados obtenidos en la Tabla 2, se determinó que la curva de calibración presenta un coeficiente de determinación cercano a uno ($R^2 = 0,9995$) con un ajuste lineal muy bueno entre la concentración estándar de ácido gálico y la absorbancia, demostrando así la confiabilidad y validez. A continuación, en la Figura 2 se presenta la curva de calibración promedio con la cual se efectuó la cuantificación del contenido de polifenoles totales para los tratamientos en estudio.

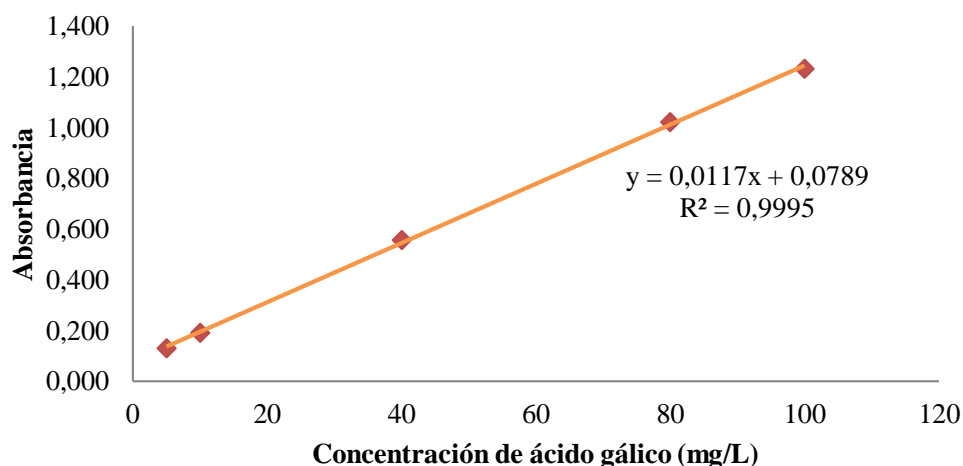


Figura 2. Curva de calibración promedio para la cuantificación de polifenoles totales

4.1.1.1.2 Precisión

Para establecer la precisión del método, se efectuó el análisis de polifenoles totales como se indica en el Capítulo anterior, a partir de una muestra liofilizada de pulpa de arazá, llevando a cabo seis repeticiones de la misma determinación y posteriormente obteniendo la desviación estándar y el coeficiente de variación del método como se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados del estudio de precisión del método de análisis de polifenoles totales de muestra liofilizada de pulpa de arazá

Repetición	Polifenoles totales
	(mg AG/100 g ms)
1	919,57
2	905,62
3	918,96
4	898,50
5	890,78
6	919,27
Promedio	908,78
Des. Estándar	12,41
Coef. Variación (%)	1,37

AG: ácido gálico; ms: materia seca

Mediante los valores expresados en la Tabla 3, se puede observar que el coeficiente de variación fue de 1,37 %, valor que se encuentra en el rango permisible descrito por **Horwitz et al. (1980)**, donde se menciona que los valores de variación pueden estar entre 5 a 8 % para el rango de magnitud de las determinaciones llevadas a cabo

(mg/100 g), comprobando así que el método contó con la precisión adecuada para poder ejecutarse los ensayos respectivos.

4.1.1.1.3 Exactitud

En lo que respecta a la exactitud del método, se realizaron varias extracciones para establecer el número de ciclos necesarios para poder llevar a cabo la recuperación del 100 % del analito (polifenoles totales) presente en la matriz vegetal, empleando metanol/agua/ácido fórmico (70/30/0,1 v/v) como solución de extracción (Figura 2).

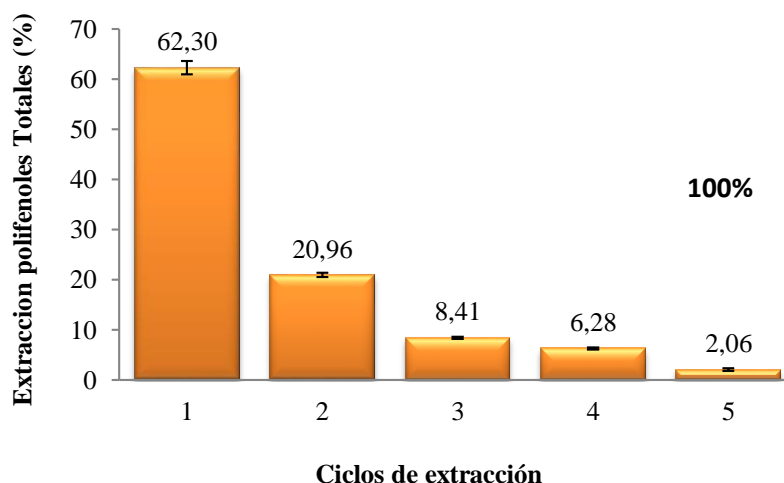


Figura 3. Porcentaje de extracción de polifenoles totales en muestra liofilizada de arazá, en función del ciclo de extracción

Como se puede observar en la Figura 3, el número de ciclos necesarios para obtener el 100 % de rendimiento fueron cinco. En el sexto ciclo ya no se detectaron cantidades de polifenoles. Así se pudo determinar que el método es exacto y preciso para generar datos verídicos.

4.1.1.2 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de polifenoles totales

En la Tabla 4, se pueden observar los resultados promedio de la cantidad de polifenoles totales para cada tratamiento de extracción de pulpa de arazá.

Tabla 4. Contenido de polifenoles totales en las extracciones de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*)

Tratamiento	Polifenoles totales (mg AG/100 g)
1	62,57 ± 0,75 ^a
2	76,46 ± 1,31 ^b
3	96,37 ± 0,75 ^e
4	85,64 ± 0,65 ^c
5	88,20 ± 0,49 ^d
6	74,94 ± 0,38 ^b
7	149,93 ± 0,49^g
8	140,48 ± 1,13 ^f

Superíndices diferentes denotan existencia de diferencias significativas (p<0,05)

A partir de los resultados obtenidos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas (p<0,05), como se indica en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis de varianza para polifenoles totales

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l.	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Relacion	153,622	1	153,622	7,95	0,0118
B:Tiempo	10782,3	1	10782,3	558,29	0,0000
C:Temperatura	6652,67	1	6652,67	344,46	0,0000
INTERACCIONES					
AB	173,236	1	173,236	8,97	0,0081
AC	238,14	1	238,14	12,33	0,0027
BC	2708,1	1	2708,1	140,22	0,0000
RESIDUOS	328,325	17	19,3132		
TOTAL (CORREGIDO)	21036,4	23			

Se analizaron los tres factores de estudio: relación pulpa-agua, tiempo y temperatura en la incidencia del contenido de polifenoles totales. Se puede observar que las variables analizadas e interacciones entre sí, tuvieron un efecto significativo en la cantidad de polifenoles extraídos. Además, en los gráficos de interacción se puede ver de mejor manera cómo dichas variables influyeron significativamente.

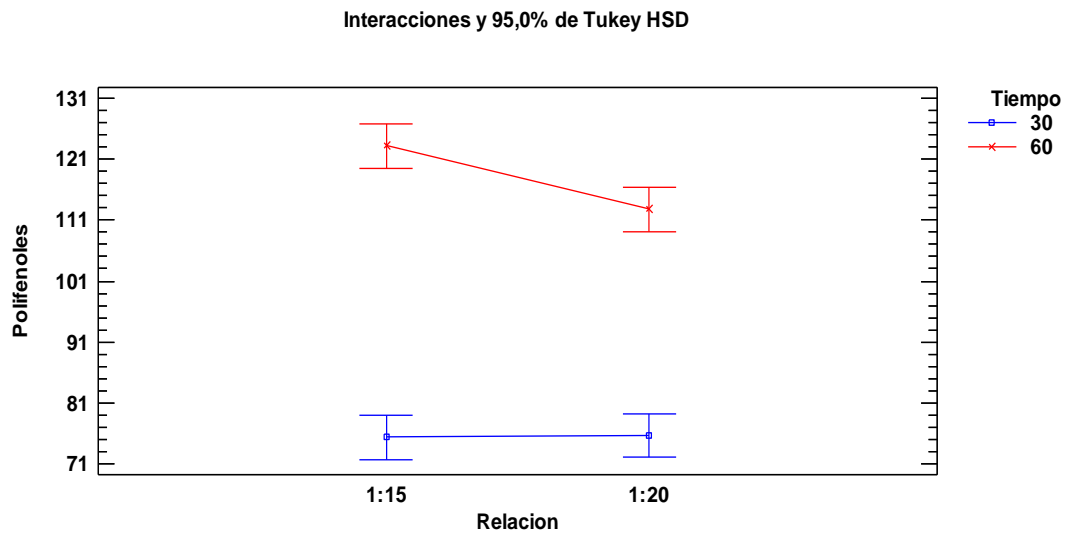


Figura 4. Interacción entre la variable relación pulpa-agua y tiempo en la extracción de polifenoles totales

En la Figura 4 se puede observar que, aplicando un tiempo de extracción de 30 minutos la cantidad de polifenoles es constante a una relación de 1:15 y 1:20, no obstante, a un tiempo de 60 minutos el contenido de polifenoles fue significativamente mayor a una relación de 1:15 frente a 1:20.

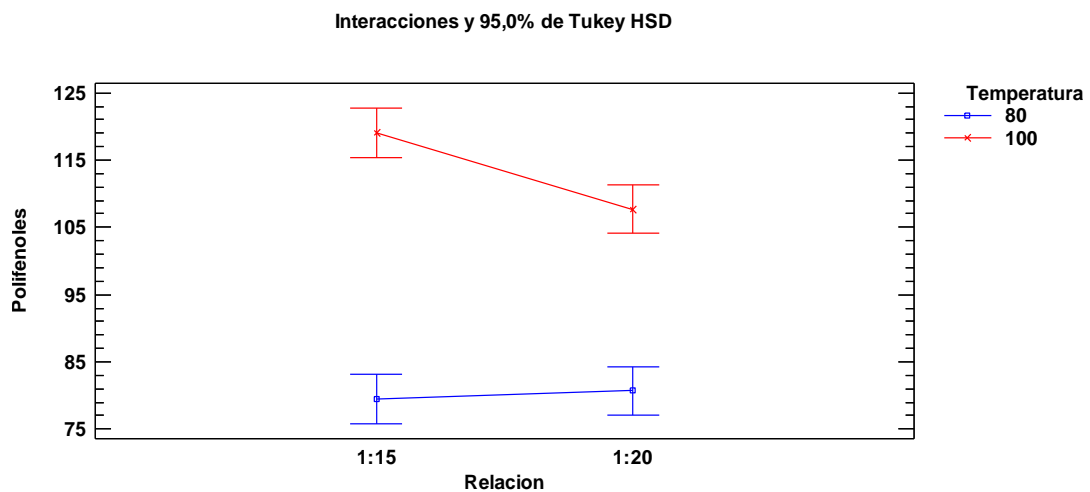


Figura 5. Interacción entre la variable relación y temperatura en la extracción de polifenoles totales

Mediante la Figura 5 se pudo determinar que, a una temperatura de 80 °C, el contenido de polifenoles fue menor y permaneció constante independientemente de la relación agua-pulpa. Sin embargo, a una temperatura de 100 °C la cantidad de polifenoles totales fue significativamente mayor a una relación de 1:15 frente a 1:20. De esta

manera se puede inferir que, la relación 1:15 extrajo mayor contenido de polifenoles totales y a una relación 1:20 podría existir una hidrólisis de componentes.

De forma similar a lo observado con los tiempos de contacto, se observó que un incremento de la temperatura mejora sensiblemente la eficiencia del proceso de extracción.

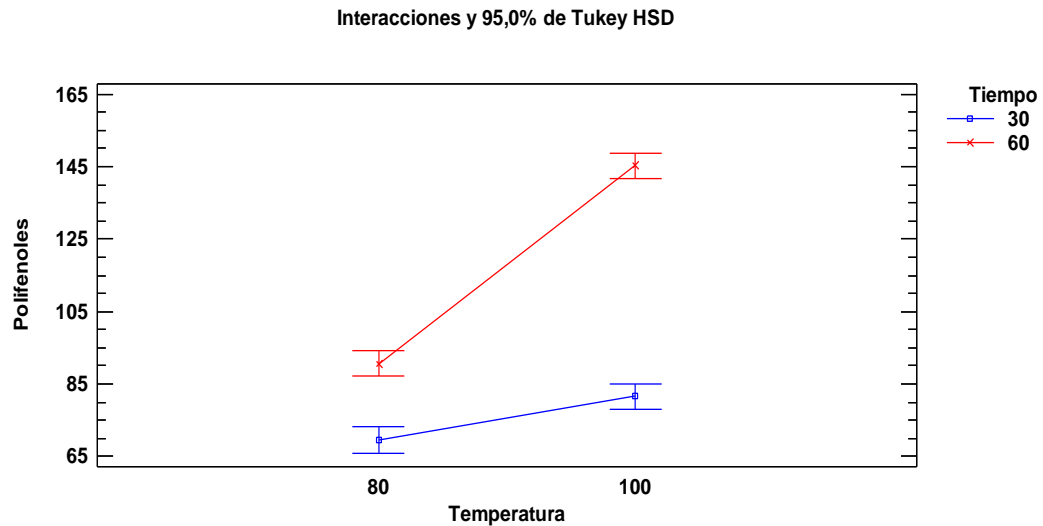


Figura 6. Interacción entre la variable temperatura y tiempo en la extracción de polifenoles totales

A través de la Figura 6 se pudo establecer que, a un tiempo de 30 minutos el contenido de polifenoles fue menor a una temperatura de 80 °C y 100 °C, expresando esta última temperatura valores más elevados. Sin embargo, a un tiempo de 60 minutos el contenido de polifenoles totales fue significativamente mayor, a una temperatura de 100 °C, lo que demuestra una clara interacción positiva entre ambos factores, que explica el alto rendimiento de extracción del tratamiento 7.

Estudios anteriores han demostrado que a una mayor temperatura de extracción el contenido de compuestos bioactivos obtenido es mayor, determinándose que favorecen la relajación de los enlaces intermoleculares por un aumento de la energía térmica, lo que provoca vibraciones moleculares, originando la separación de compuestos, creando puentes de hidrógeno con los componentes fenólicos, facilitando de esta manera la extracción de los componentes de la matriz del alimento (Muñoz et al., 2015).

4.1.1.3 Selección del mejor tratamiento para el contenido de polifenoles totales

Para la selección del mejor tratamiento, se realizó un análisis de ANOVA simple (unifactorial), en el cual se expresaron las diferencias significativas entre tratamientos, mediante la desviación estándar y, a partir de ello, determinando el que presentó un mayor efecto significativo en el contenido de polifenoles totales (Tabla 6).

Tabla 6. Rendimiento de extracción de polifenoles totales en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	62,57	X
6	3	74,93	X
2	3	76,46	X
4	3	84,95	X
5	3	88,20	X
3	3	96,37	X
8	3	140,48	X
7	3	149,93	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

El análisis se efectuó en base al contenido de polifenoles toles de cada tratamiento con 3 repeticiones. Se determinó así, que el tratamiento n° 7 es el que presentó un mayor efecto significativo en la variable de respuesta, cuyas condiciones de operación fueron una relación 1:15 pulpa/agua, un tiempo de contacto de 60 min y temperatura de trabajo de 100 °C.

4.1.2 Flavonoides totales

4.1.2.1 Adaptación del método para análisis de flavonoides totales

Para el análisis de flavonoides totales se procedió a la extracción de analitos de arazá, utilizando la metodología descrita en el Capítulo anterior. La cuantificación se efectuó por reacción de una solución de cloruro de aluminio en medio básico, formando un cromóforo de color rosado sobre una curva de calibración realizada con un set de estándares de catequina.

4.1.2.1.1 Linealidad

En la estandarización del método se realizó el estudio de linealidad, donde se utilizó un set de estándares de catequina con concentraciones entre 0 y 100 ppm, las mismas se llevaron a cabo por triplicado, en tres días diferentes. Consecutivamente se realizó

el estudio de regresión lineal y se estableció una curva de calibración promedio del método. En la Tabla 7, se indican los resultados obtenidos.

Tabla 7. Resultados del análisis de regresión lineal para la validación del método de flavonoides totales en arazá

Parámetro	Promedio
m (pendiente)	0,0032
Lo (ordenada al origen)	0,0669
R²	0,9998
tr_{obtenido}	47,0447
tr_{tabla}	2,45

De los resultados obtenidos en la Tabla 7, se determinó que la curva de calibración presentó un coeficiente de determinación cercano a uno ($R^2 = 0,9998$) con un ajuste lineal muy bueno entre la concentración estándar de catequina y la absorbancia, demostrando así la confiabilidad y validez. En la Figura 7 se presenta la curva de calibración promedio con la cual se efectuó la cuantificación del contenido de flavonoides totales para los tratamientos en estudio.

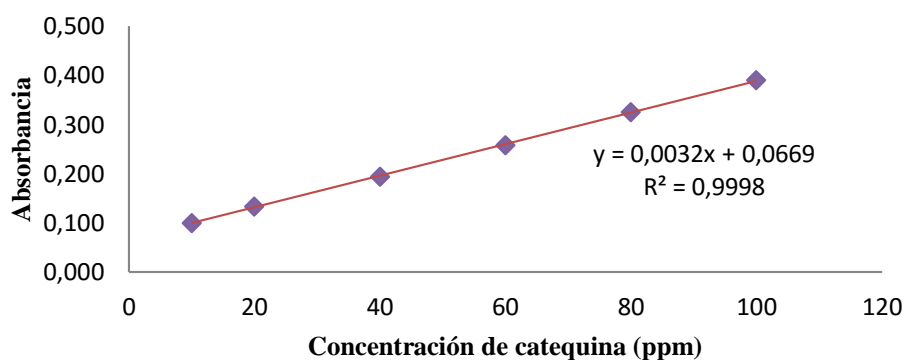


Figura 7. Curva de calibración promedio para la cuantificación de flavonoides totales

4.1.2.1.2 Precisión

Para establecer la precisión del método, se efectuó el análisis de flavonoides totales como se indica en el Capítulo anterior, a partir de una muestra liofilizada de pulpa de arazá con seis repeticiones de la misma determinación, obteniendo la desviación estándar y el coeficiente de variación del método como se puede observar en la Tabla 8.

Tabla 8. Resultados del estudio de precisión del método para análisis de flavonoides totales de muestra liofilizada de pulpa de arazá

Muestra	Flavonoides totales mg/100 g ms
1	196,78
2	201,34
3	206,56
4	212,98
5	207,45
6	191,87
Promedio	202,83
Des. Estándar	7,71
Coef. Variación (%)	3,80

ms: materia seca

Mediante los valores expresados en la Tabla 8, se puede observar que el coeficiente de variación es de 3,80 %, valor que se encuentra en el rango permisible descrito por **Horwitz, et al. (1980)**, donde se menciona que los valores de variación pueden estar entre 5 a 8 % para el rango de magnitud de las determinaciones llevadas a cabo (mg/100 g), comprobando así que el método contó con la precisión adecuada para poder ejecutarse los ensayos respectivos.

4.1.2.1.3 Exactitud

En lo que respecta a la exactitud del método, se realizaron varias extracciones para establecer el número de ciclos necesarios para poder llevar a cabo la recuperación del 100 % del analito (flavonoides totales) presente en la matriz vegetal, empleando metanol/agua/ácido fórmico como solución de extracción (Figura 8).

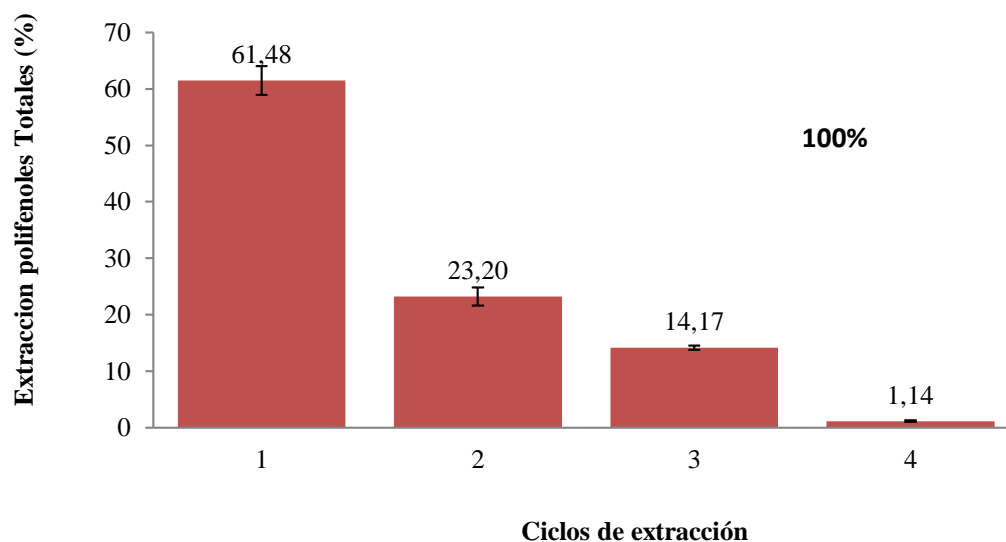


Figura 8. Porcentaje de extracción de flavonoides totales en muestra liofilizada de arazá

Como se puede observar en la Figura 8, el número de ciclos necesarios para obtener aproximadamente el 100 % de rendimiento fue cuatro. En el quinto ciclo ya no se detectaron presencia de flavonoides en el extracto. Así se puede determinar que el método resultó exacto y preciso para generar datos verídicos.

4.1.2.2 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de flavonoides totales

En la Tabla 9, se pueden observar los resultados promedio del contenido de flavonoides totales para cada tratamiento de extracción de pulpa de arazá.

Tabla 9. Contenido de flavonoides totales en las extracciones de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*)

Tratamiento	Flavonoides totales (mg catequina/100 g)
1	31,77 ± 0,27 ^a
2	40,23 ± 1,78 ^b
3	53,62 ± 0,27 ^d
4	45,08 ± 1,09 ^c
5	42,16 ± 1,07 ^{b,c}
6	34,42 ± 1,09 ^a
7	74,85 ± 1,11 ^f
8	71,14 ± 1,88 ^e

Superíndices diferentes denotan existencia de diferencias significativas (p<0,05)

A partir de los resultados obtenidos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), como se indica en la Tabla 10.

Tabla 10. Análisis de varianza para flavonoides totales

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l.	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación	49,7952	1	49,7952	4,48	0,0494
B:Temperatura	1009,46	1	1009,46	90,78	0,0000
C:Tiempo	3465,37	1	3465,37	311,65	0,0000
INTERACCIONES					
AB	48,4788	1	48,4788	4,36	0,0522
AC	63,018	1	63,018	5,67	0,0293
BC	684,054	1	684,054	61,52	0,0000
RESIDUOS	189,032	17	11,1195		
TOTAL (CORREGIDO)	5509,2	23			

Se examinaron los tres factores de investigación que son: relación pulpa-agua, tiempo y temperatura en el rendimiento de la extracción de flavonoides totales. Por otro lado, la interacción relación x temperatura no tuvo un efecto significativo en el contenido de flavonoides totales. En los gráficos de interacción se puede observar cómo las variables mencionadas influyeron significativamente en la variable de respuesta.

Interacciones y 95,0% de Tukey HSD

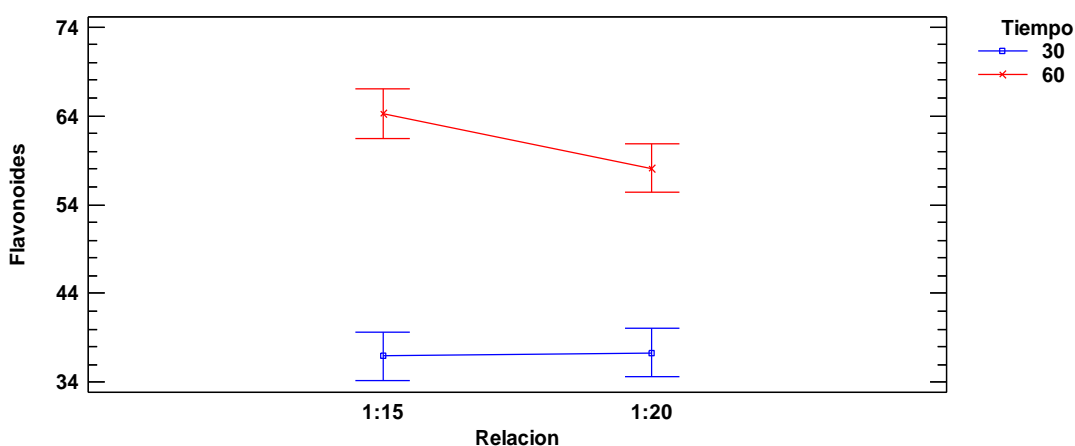


Figura 9. Interacción entre la variable relación y tiempo en el contenido de flavonoides totales

En la Figura 9 se puede observar que, empleando un tiempo de extracción de 30 minutos el contenido de flavonoides extraído fue constante, para una relación 1:15 y 1:20. Por otro lado, al aplicar un tiempo de 60 minutos, se determinó que el contenido

de flavonoides totales ascendió significativamente, al pasar la relación pulpa-agua, de 1:20 a 1:15.

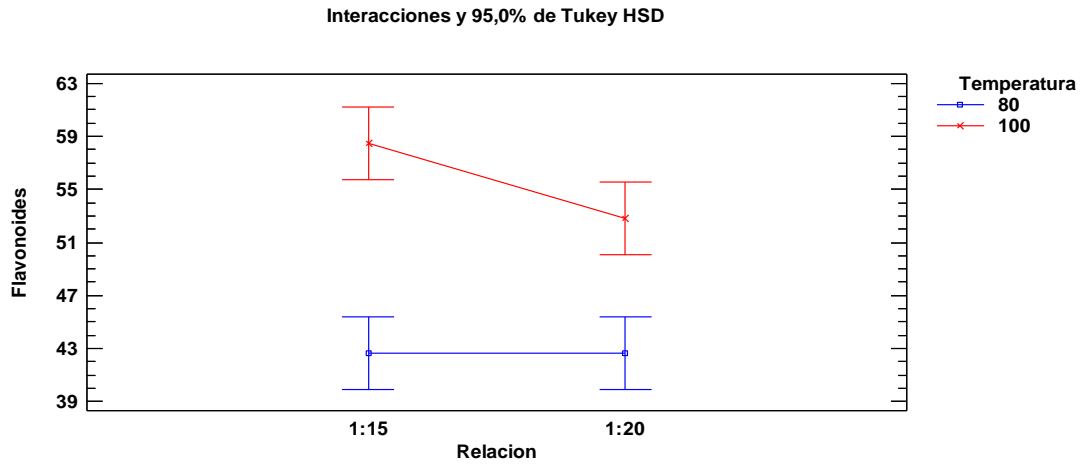


Figura 10. Interacción entre las variables relación y temperatura en el contenido de flavonoides totales

Mediante la Figura 10 se pudo determinar que no existió una interacción entre la temperatura y la relación pulpa-agua, de forma que no se produjeron mejoras significativas en el rendimiento de extracción para ningún nivel de relación pulpa-agua, pese al incremento de temperatura de 80 °C a 100 °C. Se puede inferir así, que a una relación de 1:15 se extrajo un mayor contenido de flavonoides totales, ya que a una relación de 1:20 pudo existir una hidrólisis en los compuestos.

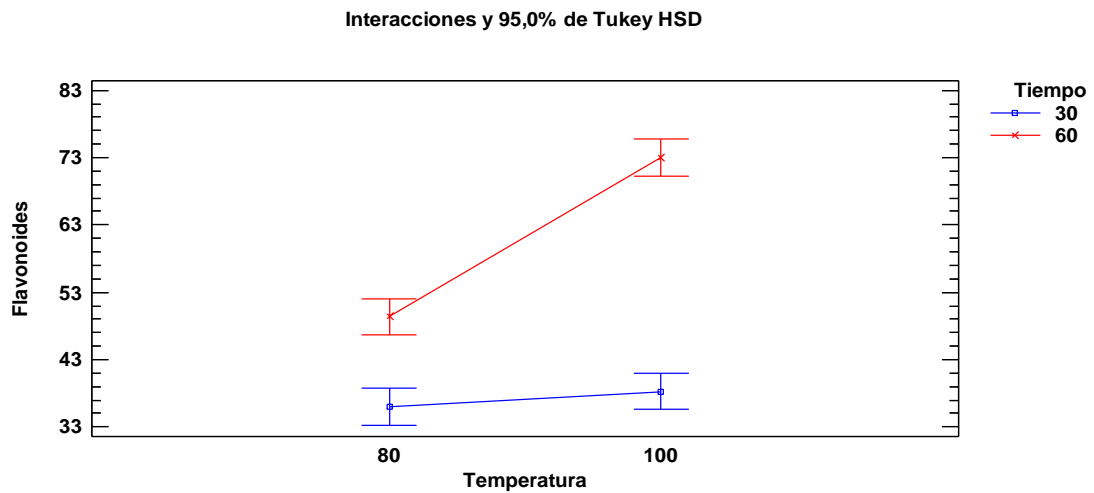


Figura 11 . Interacción entre la variable temperatura y tiempo en el contenido de flavonoides totales

En la Figura 11 se pudo determinar que, aplicando un tiempo de 30 minutos, el contenido de flavonoides fue bajo para una temperatura de 80 °C y 100 °C. No obstante, empleando un tiempo de 60 minutos la extracción de flavonoides totales se incrementó significativamente, aún más a una temperatura de 100 °C frente la de 80 °C.

En base a estudios anteriores han demostrado que, a una elevada temperatura de extracción el contenido de componentes bioactivos es mayor, ya que el aumento de energía térmica favorecen la relajación de los enlaces intermoleculares, provocando vibraciones moleculares, lo que origina la separación de componentes, creando puentes de hidrógeno con los compuestos fenólicos, facilitando de esta manera la extracción de los componentes de la matriz del alimento (Muñoz, et al., 2015).

4.1.2.3 Selección del mejor tratamiento para el contenido de flavonoides totales

Para la selección del mejor tratamiento, se realizó un análisis de ANOVA simple, en el cual se evidenciaron las diferencias significativas entre tratamientos, mediante las desviaciones estándar y con ello, el que presentó un mayor efecto positivo en la variable de respuesta. (Tabla 11).

Tabla 11. Rendimiento de extracción de flavonoides totales en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados

Tratamiento	Casos	Media	Grupos homogéneos
1	3	31,7667	X
6	3	34,42	X
2	3	40,2267	X
5	3	42,16	XX
4	3	45,0833	X
3	3	53,62	X
8	3	71,1467	X
7	3	74,8533	X

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X

El análisis se realizó en base al contenido de flavonoides totales de cada tratamiento empleado con 3 repeticiones. Siendo así se determinó que el tratamiento n° 7 presentó un mayor efecto significativo en la variable de respuesta, cuyas condiciones de operación fueron: una relación 1:15 pulpa/agua, un tiempo de contacto de 60 min y temperatura de trabajo de 100 °C.

4.1.3 Cuantificación de vitamina C

La cuantificación de vitamina C se realizó mediante reflectometría, fundamentándose en el principio de la oxidación del ácido molibdofosfórico en presencia del ácido ascórbico.

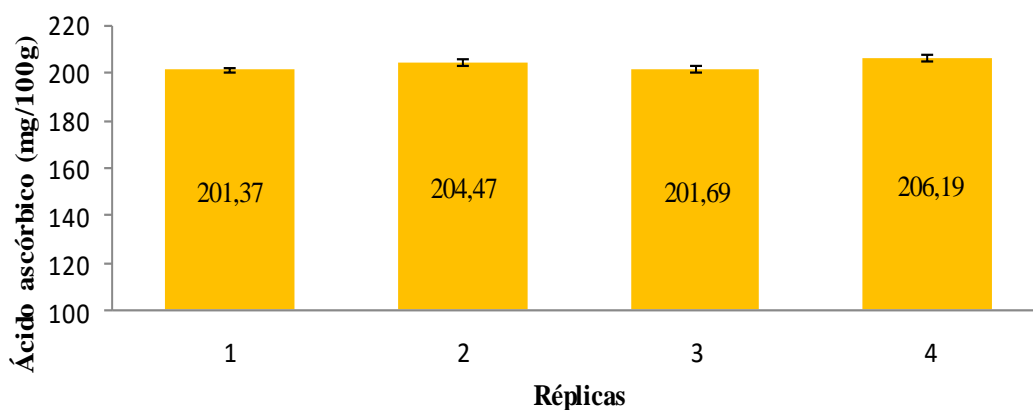


Figura 12. Medidas repetidas de vitamina C para el cálculo de la precisión del método de cuantificación en pulpa liofilizada de arazá

Con el fin de suprimir errores experimentales se realizó la repetitividad del método, comprobando que los datos obtenidos fueron confiables y reproducibles, al obtener un coeficiente de variación de 1,13 %.

4.1.3.1 Efecto de diferentes tratamientos de extracción sobre el contenido de vitamina C

En la Tabla 12, se puede apreciar el contenido promedio de vitamina C para cada tratamiento de extracción de pulpa de arazá.

Tabla 12. Contenido de vitamina C en las extracciones de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*)

Tratamiento	Vitamina C (mg ác ascórbico/100 g mf)
1	15,65 ± 0,05 ^a
2	23,62 ± 0,03 ^c
3	38,57 ± 0,06 ^f
4	30,17 ± 0,03 ^e
5	27,24 ± 0,04 ^d
6	19,03 ± 0,02 ^b
7	62,15 ± 0,05^h
8	56,43 ± 0,03 ^g

Superíndices diferentes denotan existencia de diferencias significativas (p<0,05)

Con los valores obtenidos, se realizó un análisis de varianza ANOVA, para determinar si existieron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), como se observa en la Tabla 13.

Tabla 13. Análisis de varianza para vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l.	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación	77,0775	1	77,0775	9,83	0,0060
B:Temperatura	1211,4	1	1211,4	154,53	0,0000
C:Tiempo	3884,94	1	3884,94	495,56	0,0000
INTERACCIONES					
AB	68,3775	1	68,3775	8,72	0,0089
AC	72,072	1	72,072	9,19	0,0075
BC	687,903	1	687,903	87,75	0,0000
RESIDUOS	133,271	17	7,83949		
TOTAL (CORREGIDO)	6135,05	23			

Se analizaron los tres factores de estudio que son: relación, tiempo y temperatura, en la influencia del contenido de vitamina C. Se puede establecer que las variables mencionadas, tuvieron un efecto estadísticamente significativo sobre la variable de respuesta, con un 95 % de nivel de confianza.

En los gráficos de interacción se puede ver cómo dichas variables influyeron significativamente en la variable de respuesta.

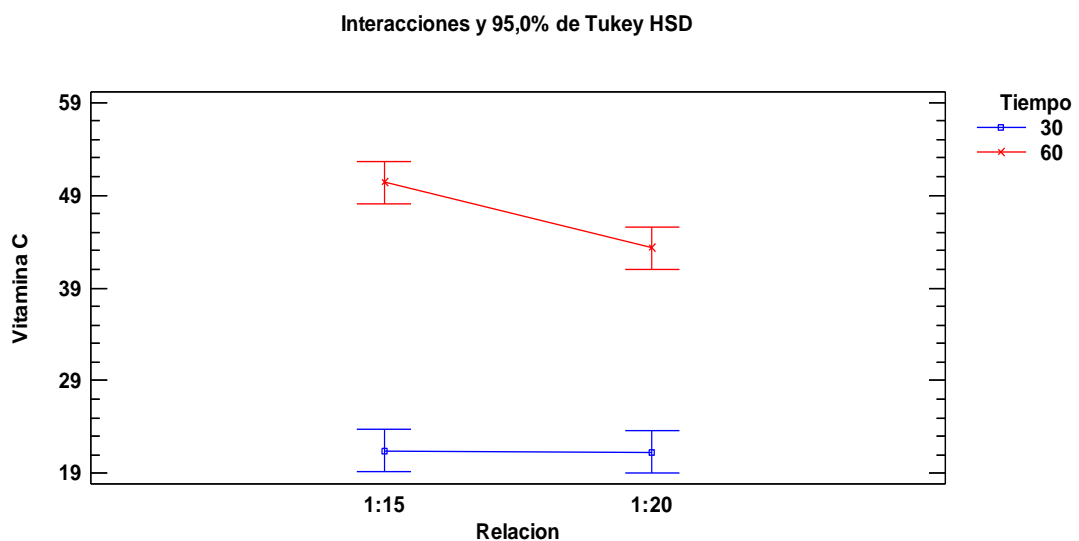


Figura 13. Interacción entre la variable relación y tiempo en el contenido de vitamina C

Mediante la Figura 13 se determinó que, utilizando un tiempo de 30 minutos, el contenido de vitamina C fue bajo, para una relación 1:15 y 1:20, no obstante, aplicando un tiempo de 60 minutos el contenido de vitamina C fue significativamente mayor, a una relación 1:15 frente a una relación 1:20

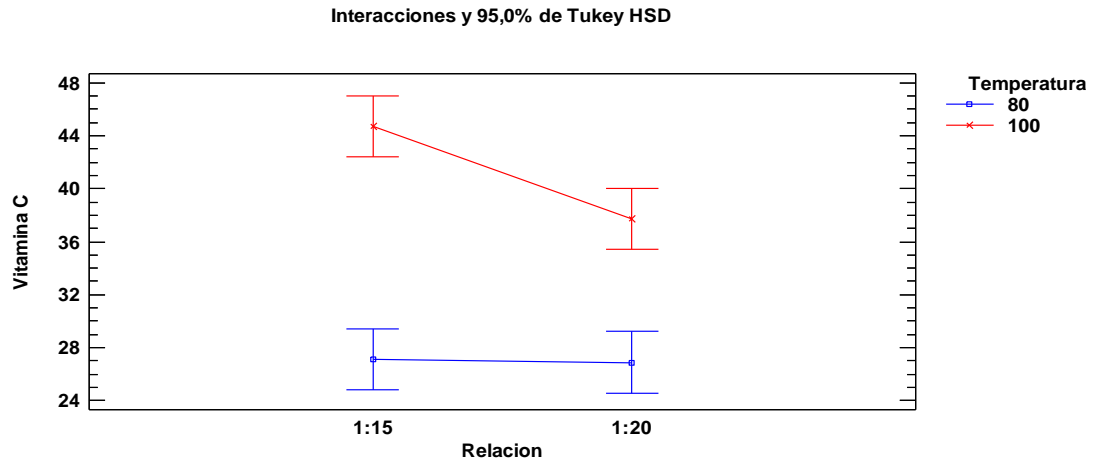


Figura 14. Interacción entre la variable relación y temperatura en el contenido de vitamina C

En la Figura 14 se pudo establecer que, aplicando una temperatura de 80 °C el contenido extraído de vitamina C fue relativamente bajo para una relación de 1:15 y 1:20, por otro lado, al aplicar una temperatura de 100 °C el contenido de vitamina C ascendió significativamente al utilizar una relación 1:15. Siendo así se puede inferir que, a una relación de 1:20 existió una hidrólisis de componentes, por dicha razón la relación 1:15 extrajo más vitamina C.

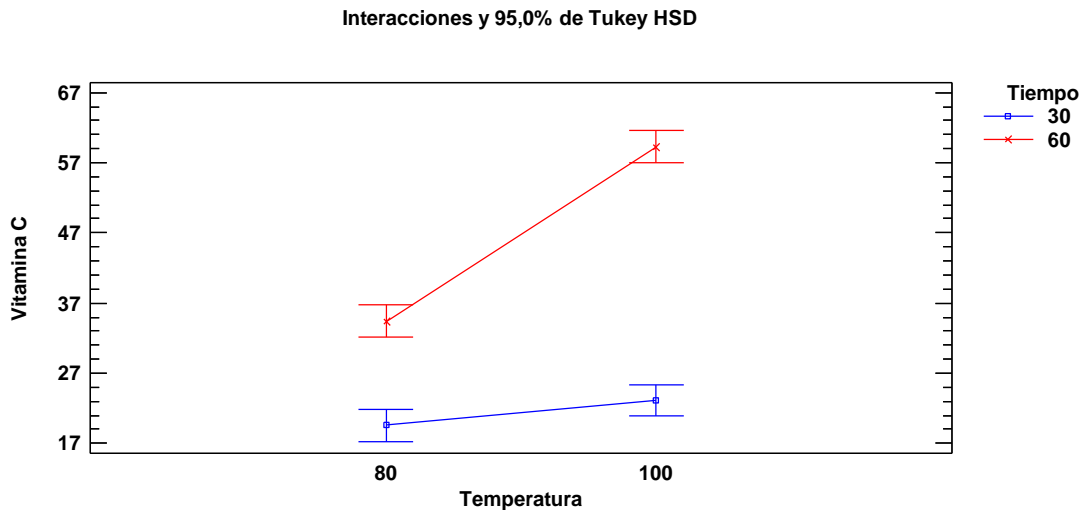


Figura 15. Interacción entre la variable temperatura y tiempo en el contenido de vitamina C extraída de la pulpa de arazá

Mediante la Figura 15 se pudo determinar que, al utilizar un tiempo de 30 minutos el contenido de vitamina C fue bajo para una temperatura de 80 y 100 °C, sin embargo, al utilizar un tiempo de 60 minutos el contenido de vitamina C se incrementó significativamente, especialmente a una temperatura de 100 °C.

Estudios anteriores han demostrado que, al utilizar altas temperaturas de extracción el contenido de compuestos bioactivos es mayor, ya que favorecen la relajación de los enlaces intermoleculares, por el aumento de la energía térmica, provocando vibraciones moleculares, lo que origina la separación de componentes, creando así puentes de hidrógeno con los compuestos fenólicos, facilitando de esta manera la extracción de los componentes de la matriz del alimento (Muñoz, et al., 2015).

4.1.3.2 Selección del mejor tratamiento para el contenido de vitamina C

Para la selección idónea del mejor tratamiento, se realizó un análisis de ANOVA simple, en el cual se pudo constatar las diferencias significativas entre los tratamientos de estudio, a través de la desviación estándar y con ello, se determinó el tratamiento con mayores efectos positivos sobre la variable de respuesta (Tabla 14).

Tabla 14. Rendimiento de extracción de vitamina C en pulpa de arazá de los diferentes tratamientos estudiados

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	15,65	x
6	3	19,03	x
2	3	23,62	x
5	3	27,24	x
4	3	30,18	x
3	3	38,57	x
8	3	56,43	x
7	3	62,15	x

No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X

El análisis se efectuó en base al contenido de vitamina C de cada tratamiento empleado con 3 repeticiones, a partir de ello se determinó que el tratamiento n° 7 tuvo un mayor efecto significativo en la variable de respuesta, cuyas condiciones de operación fueron: una relación 1:15 pulpa/agua, un tiempo de contacto de 60 min y temperatura de trabajo de 100 °C.

4.1.4 Contenido de sólidos totales en el extracto de pulpa de arazá

Dado el mayor rendimiento de extracción de compuestos bioactivos en el tratamiento siete, se determinó la cantidad de sólidos totales en el extracto obtenido mediante dicho tratamiento, resultando ser de 0,5 %.

El extracto final se consideró que debió contener un porcentaje de sólidos del 10 %, para optimizar su manejo. Para calcular el volumen del extracto en base a la cantidad de sólidos determinada, se aplicó la ecuación 1

$$V_{t1} * ST_1 = V_{t2} * ST_2 \quad \text{Ecuación 1}$$

Aplicando datos de operación:

$$2550 \text{ ml} * 0,5 \% = V_{t2} * 10 \%$$

$$V_{t2} = \frac{2550 \text{ ml} * 0,5 \%}{10 \%}$$

$$V_{t2} = 127,5 \text{ ml}$$

Una vez extraída el agua, se procedió a medir nuevamente la cantidad de sólidos totales para determinar la cantidad de maltodextrina necesaria para la microencapsulación. Se obtuvo un valor de 9,137 %, por lo cual, se necesitaron 9,137 g de maltodextrina para efectuarse la microencapsulación, tal como se refleja en el apartado 3.2.4.

4.1.5 Rendimiento del microencapsulado de pulpa de arazá

El rendimiento de la microencapsulación fue del 75,42 %, parte de la muestra se impregnó en las paredes del Spray Dryer, provocando mínimas pérdidas. El valor obtenido concuerda con el de otros autores que trabajaron de la misma manera con secado por aspersión: **Riofrío (2017)** obtuvo un rendimiento del 78,58 % y **Tirado (2016)** obtuvo un rango de 70 a 77,22 %. La correcta elección del material de recubrimiento es fundamental, ya que influye en la eficiencia de la encapsulación y la estabilidad de la microcápsula (**Luna et al., 2016**). Típicamente, los materiales de pared efectivos para el secado por aspersión deben tener propiedades funcionales para incrementar el rendimiento del producto final, que incluyen, buena emulsificación, formación de película, alta solubilidad, baja viscosidad a altas concentraciones y bajo costo (**Loksuwan, 2007b**). La maltodextrina al cumplir con estas condiciones, se seleccionó como material microencapsulante.

4.1.6 Análisis de los resultados obtenidos en el microencapsulado de componentes bioactivos de arazá

Una vez microencapsulado el extracto concentrado, se analizaron las cantidades de compuestos bioactivos, obteniéndose los resultados estipulados en la Tabla 15.

Tabla 15. Contenido de compuestos bioactivos en microencapsulado (ME) de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*)

Compuesto bioactivo	Concentración (mg/100 g ME)
Polifenoles totales (ácido gálico)	1562,65 ± 2,09
Flavonoides totales (catequina)	229,84 ± 2,71
Vitamina C (ác. ascórbico)	202,23 ± 1,91

Se puede observar que de los compuestos bioativos determinados, el compuesto que prevalece es polifenoles totales, seguidamente flavonoides totales y finalmente vitamina C. Los cuales se detallan de mejor manera a continuación. El microencapsulado al contener proporciones similares con la fruta original se comparó en base al fruto liofilizado de arazá.

4.1.6.1 Análisis de polifenoles totales

La cantidad de polifenoles obtenidos experimentalmente de 1562,65 mg de ácido gálico/100 g ME, se encuentran dentro del rango reportado por varios autores para pulpa de fruta liofilizada. Así, **Toledo (2010)** obtuvo de 2167,41 mg AG/100 g ms a 1797,16 mg AG/100 g ms. A su vez, **Llerena (2014)** menciona que en una muestra liofilizada de arazá se obtuvieron 3507,79±1430,36 mg AG/100 g ms. Las variaciones no son muy grandes respecto a lo reportado por el primer autor, sin embargo, existe un factor por el cual se vio influenciado el contenido de polifenoles que es el estado de madurez. En el presente estudio se trabajó con frutos en estado de madurez 5, mientras que los dos autores reportados se asume que trabajaron con arazá con un grado de madurez 4, concordando con **Cuellar et al. (2013a)**, quien menciona que el arazá presenta una mayor actividad antioxidante en el estado verde, y sigue disminuyendo con el grado de madurez.

4.1.6.2 Análisis de flavonoides totales

Los flavonoides al ser un subgrupo de los polifenoles arrojaron valores menores a los de los polifenoles. Además, para generar el radical flavínico, capturan radicales libres, el mismo que es mucho menos reactivo, esto se debe a que en él los electrones desapareados están más deslocalizados (**Quiñones et al., 2012**).

A pesar de la disminución de los componentes bioactivos durante la maduración, se trabajó con arazá de madurez comercial (estado de madurez 5) ya que estudios han demostrado que, dichos compuestos alcanzan su punto de equilibrio en este estado,

previniendo las reacciones de degradación por efecto de la isoencima polifenoloxidasas (**Vasco et al., 2009**). De igual manera el fruto presenta un mayor contenido de flavonoides en estado verde y va disminuyendo conforme la maduración.

4.1.6.3 Análisis de la cuantificación de vitamina C

En vitamina C, el resultado obtenido de 202,23 mg ácido ascórbico/100 g ME es similar a lo reportado por **Mejía, et al. (2006)**, que determinaron una cantidad de 182,77 mg ácido ascórbico/100 g ms y **Vargas et al. (2005)**, quienes obtuvieron un valor de 192 mg ácido ascórbico/100 g ms. Las variaciones probablemente se deben al estado de madurez, concertando así con **Hernández, et al. (2006)**, quien menciona que el ácido ascórbico presenta concentraciones muy altas en arazá, pero disminuye durante la maduración del fruto. Con los resultados obtenidos se podría establecer que los compuestos de pulpa de arazá microencapsulados, se ubican dentro de los niveles clasificados como ricos en vitamina C. El Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF 1978), señala que en los límites se ubican la guayaba (*Psidium guajava* L.) (1430 mg ác ascórbico/100 g ms) en el límite superior, y el anón (*Annona squamosa* L.) (132 mg ác ascórbico /100 g) en el límite inferior.

4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Una vez realizados los análisis correspondientes, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula, ya que el contenido de compuestos bioactivos varió significativamente entre tratamientos de extracción, con lo que se pudo establecer el mejor tratamiento para la microencapsulación. Se determinó que el tiempo y la temperatura son los parámetros que más influyeron en el contenido final de los compuestos bioactivos.

CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Al utilizar alta temperatura, largo tiempo y baja relación pulpa-agua en la extracción, el contenido de compuestos bioactivos se incrementa significativamente.

- Las condiciones de extracción que permitieron obtener el mejor rendimiento de compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides y vitamina C) fueron: relación pulpa-agua de 1:15, tiempo de contacto de 60 minutos y una temperatura de 100 °C.
- El rendimiento final del microencapsulado fue del 75,42 % al emplear maltodextrina como agente encapsulante.
- El contenido de compuestos bioactivos del microencapsulado de arazá fue: 1562,65 mg AG/100 g ME para polifenoles totales; 229,84 mg catequina/100 g ME para flavonoides totales; y 202,23 mg ác. ascórbico/100 g ME para vitamina C.
- La determinación de los valores de los compuestos bioactivos determinados tanto en la pulpa liofilizada como en el microencapsulado se hizo mediante técnicas analíticas validadas respecto a su precisión y repetitividad, cumpliendo los criterios de Horwitz, lo que confiere un adecuado grado de confiabilidad en cada uno de los resultados.

5.2 RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo análisis en el fruto y microencapsulado de arazá de otros compuestos bioactivos de relevancia, como pueden ser: clorofila, carotenos, ácidos orgánicos, además de su capacidad antioxidante.
- Estudiar el escalado del proceso de extracción a nivel de planta piloto para verificar su aplicabilidad en la industria de los suplementos vitamínicos.
- Ampliar los rangos de estudio de los parámetros establecidos en esta investigación para lograr la optimización final del proceso de extracción.
- Llevar a cabo un estudio de costos para determinar el tratamiento óptimo desde un punto de vista técnico-económico.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, M., Akter, M. S., Lee, J.-C. y Eun, J.-B. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1307-1312. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.014>
- Andari, V. (2009). La Importancia de los Antioxidantes en la Salud Cardiovascular. *Interactive Parenting Media*, 42, 206-207.

- Bringas-Lantigua, M., Expósito-Molina, I., Reineccius, G. A., López-Hernández, O. y Pino, J. A. (2011). Influence of Spray-Dryer Air Temperatures on Encapsulated Mandarin Oil. *Drying Technology*, 29(5), 520-526. doi: 10.1080/07373937.2010.513780
- Cuellar, F. A., Ariza, E., Anzola, C. y Restrepo, P. (2013a). Estudio de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) durante la maduración. [Arazá; capacidad antioxidante; ABTS; DPPH; FRAP; decoloración del β -caroteno; madurez]. 2013, 42(2), 8.
- Cuellar, F. A., Ariza, E., Anzola, C. y Restrepo, P. (2013b). Estudio de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) durante la maduración. *Revista Colombiana de Química*, 42(2), 21-28. doi: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/45885>
- Díaz, Y. L., Torres, L. S., Serna, J. A. y Sotelo, L. I. (2017). Efecto de la Encapsulación en Secado por Atomización de Biocomponentes de Pitahaya Amarilla con Interés Funcional. *Información tecnológica*, 28(6), 23-34. doi: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v28n6/art04.pdf>
- Espín, S. y Samaniego, I. (2016). *Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao* (Vol. 105). Quito (Ecuador): Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Santa Catalina (INIAP-EESC).
- Esquivel González, B. E., Ochoa Martínez, L. A., Rutiaga-Quiñones y O.M. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2). doi: <http://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>
- Fernández-Trujillo, J. P., Hernández, M. S., Carrillo, M. y Barrera, J. (2011). Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) A2 - Yahia, Elhadi M *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 98-117): Woodhead Publishing.
- Figueroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M. y Ceballos Ortíz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído con CO₂ supercrítico. [semilla de mora; fluidos supercríticos; microencapsulación; microscopía electrónica de barrido]. 2016, 45(2), 9. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481>
- Gallego, L., Hernández, M. S. y Fernández-Trujillo, J. P. (2002). Evolución de la calidad del fruto del arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) bajo atmósfera modificada *Avances en Técnicas y Ciencias del Frío 1* (pp. 517 – 523).
- Guerra, C. (2017). *Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos del mortiño (Vaccinium floribundum, Kunth)*. Tesis grado Investigation, Universidad de las Américas (UDLA), Quito.
- Hernández, M. S., Barrera, J. y Carrillo, M. (2006). *Arazá* (1 ed.). Bogotá (Colombia): Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI.

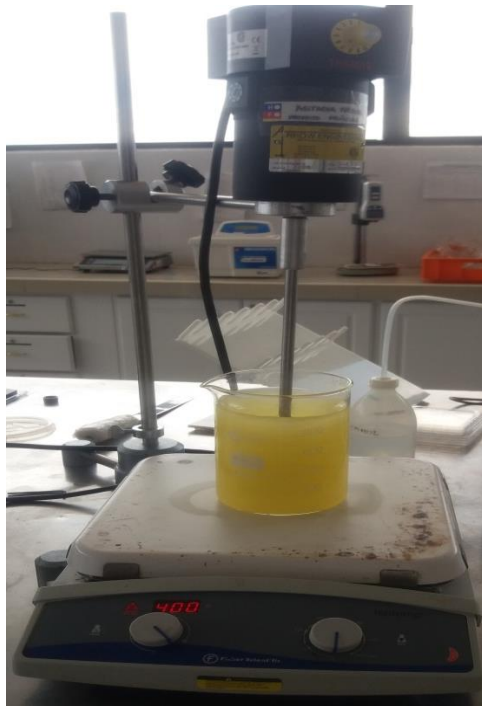
- Hernández, M. S., Barrera, J., Martínez, O. y Fernández-Trujillo, J. P. (2009). Postharvest quality of arazá fruit during low temperature storage. *LWT - Food Science and Technology*, 42(4), 879-884. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.009>
- Hernández, M. S. y Barrera, J. A. (2004a). Bases Técnicas para el Aprovechamiento Agroindustrial de Especies Nativas de la Amazonia 100.
- Hernández, M. S. y Barrera, J. A. (2004b). *Bases Técnicas para el Aprovechamiento Agroindustrial de Especies Nativas de la Amazonia. Aspectos biológicos de conservación de frutas promisorias de la amazonía colombiana*. Bogotá (Colombia): Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI.
- Hernández, M. S., Martínez, O. y Fernández-Trujillo, J. P. (2007). Behavior of arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) fruit quality traits during growth, development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 111(3), 220-227. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.029>
- Horwitz, W., R Kamps, L. y W Boyer, K. (1980). *Quality assurance in the analysis of foods and trace constituents* (Vol. 63).
- Huang, Y.-C., Chang, Y.-H. y Shao, Y.-Y. (2006). Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan. *Food Chemistry*, 98(3), 529-538. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.083>
- ICBF (1978). Tabla de composición de alimentos colombiano. Colombia., 52-53.
- INIAP (2014). Programas de fruticultura, Arazá. In P. d. Fruticultura (Ed.). Quito, Ecuador.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J. y Adhikari, B. (2015). Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. *Journal of Functional Foods*, 19, 868-881. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.029>
- Loksuwan, J. (2007a). *Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin* (Vol. 21).
- Loksuwan, J. (2007b). Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 21(5-6), 928-935. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.10.011>
- López-Hernández, O. D. (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(3), 381-389. doi: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v44n3/far13310.pdf>
- López-Hernández, O. D., Marquéz, T., Mayo, O., Toledo, C. y Pérez, E. (2009). Características del Aceite de Semillas de Cucurbita pepo L. Microencapsulado mediante Secado por Aspersión con Maltodextrina y Goma Arábica. *Latin*

American Journal of Pharmacy, 28(4), 628-632. doi: http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/4/LAJOP_28_4_2_11_JBX374IK8W.pdf

- Luna, J. J., López, J., Jiménez, O. y Luna, L. (2016). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5(10), 11. doi: <http://www.ciba.org.mx/index.php/CIBA/article/view/56/264>
- Llerena, W. (2014). *Estudio de la relación entre el color y el contenido de antioxidantes de seis frutas tropicales y andinas: Arazá (Eugenia stipitata), Mora (Rubus glaucus) variedad Iniap Andimora 2013, Mortiño (Vaccinium floribundum Kunth), Naranjilla (Solanum quitoense) variedad Iniap Quitoense 2009, Tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) variedad Anaranjado Gigante y Uvilla (Physalis peruviana L.) variedad Golden Keniana*. Tesis grado Investigación, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Mejía, L. J., Narváez, C. E. y Restrepo, L. P. (2006). Cambios físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento congelado de la pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). 2006, 24(1), 87-95. doi: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/20006/21141>
- Muñoz, W., Chávez, W., Ludy, P., Rendón, M., Chaparro, M. y Ángela, O. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *CENIC. Ciencias Químicas*, 46(1), 38-46. doi: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181643224027>
- Narváez-Cuenca, C.-E., Silva-Bustos, K.-J. y Restrepo-Sánchez, L.-P. (2015). Effects of thermal processing combined with sucrose on the vitamin C content, total phenolic content, antioxidant activity, and sensory characteristics of arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh) purée during frozen storage. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 212-219.
- Narváez-Cuenca, C. E. (2003). Efecto del choque térmico de arazá (*Eugenia stipitata* Me Vaugh) sobre la tolerancia al frío. [Arazá; *Eugenia stipitata* Me Vaugh; Capacidad antioxidante; Frutas amazónicas; Daños por frío; Choque térmico]. *Revista Colombiana de Química*, 32(2), 93-102. doi: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/18056/18935>
- Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F. y Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 182-186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.10.001>
- Peña, A. C., González, M. L., Hernández, M. S., Novoa, C., Quicazán, M. C. y Fernández-Trujillo, J. P. (2011). Evaluación del comportamiento del fruto de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) en las operaciones de acondicionamiento húmedo poscosecha. 2011, 1(2), 7. doi: <https://doi.org/10.17584/rcch.2007v1i2.1159>

- Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. (2001). *Antioxidantes de los alimentos*. Zaragoza-España: Woodhead Publishing (Elsevier).
- Quiñones, M., Miguel, M. y Alexandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89. doi: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf
- Riofrío, Z. (2017). *Obtención y caracterización de agua de coco (Cocos nucifera) en polvo mediante secado por aspersión utilizando coadyuvantes de secado*. Tesis grado Investigación, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Roges, H., Buxant, R. y Mignolet, E. (2004). Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). [Article]. *European Food Research and Technology*, 218(4), 380-384. doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0853-6>
- Tirado, M. (2016). *Evaluación de la Actividad antiinflamatoria de liposomas obtenidos mediante Secado por aspersión a partir del extracto hidrosoluble de la cáscara del coco verde (Cocos nucifera)*. Tesis grado Investigación, Universidad Técnica de Ambato, Ambato.
- Toledo, D. (2010). *Determinación del valor nutritivo y funcional de tres clones seleccionados de arazá (Eugenia stipitata) y seis de borojó (Borojoa patinoi), y evaluación del proceso para la obtención de pulpas pasteurizadas y congeladas*. Tesis grado Investigación, Escuela Politécnica Nacional, Quito (Ecuador).
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N. y Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 29-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2004.11.005>
- Vargas, A. M., Rivera Camelo, á. P. y Narváez Cuenca, C. E. (2005). Capacidad antioxidante durante la maduración de arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). *Revista Colombiana de Química*, 34(1), 57-65. doi: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/779/1318>
- Vasco, C., Avila, J., Ruales, J., Svanberg, U. y Kamal-Eldin, A. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup7), 278-288. doi: <https://doi.org/10.1080/09637480903099618>

ANEXOS



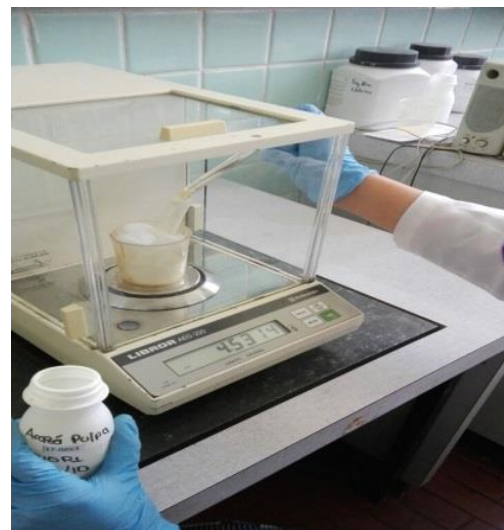
1. Extracción de compuestos bioactivos de arazá



2. Concentración del extracto



3. Microencapsulación



4. Pesado del microencapsulado



5. Muestras en el multimixer



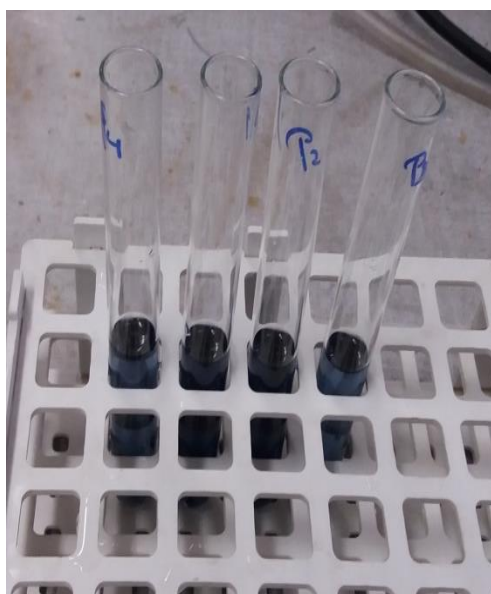
6. Muestras en el baño ultrasónico



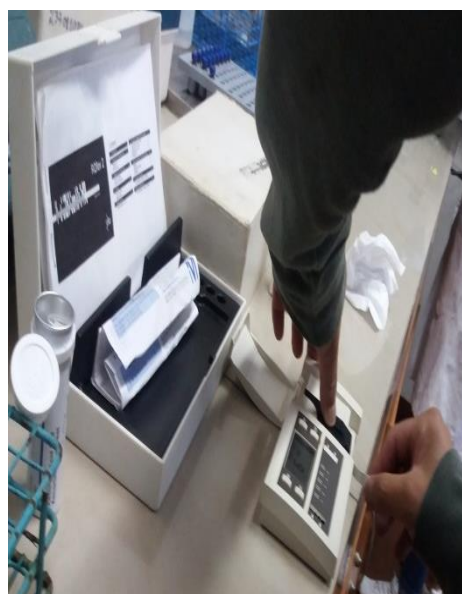
7. Centrifugación



8. Determinación de flavonoides totales



9. Determinación de polifenoles totales



10. Determinación de vitamina C