



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y

BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de antocianinas microencapsuladas a partir de cáscaras de berenjena (*Solanum melongena*)

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

Autor: Erika Vanessa Telenchana Pérez

Tutor: PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador

Diciembre - 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Orestes López Hernández

CERTIFICA

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

Ambato, 18 de Septiembre del 2019



.....
PhD. Orestes Darío López Hernández

C.I. 175478486-4

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Erika Vanessa Telenchana Pérez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



.....
Srta. Erika Vanessa Telenchana Pérez

C.I. 180539522-3

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores 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 y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para consistencia firman:



.....
Presidente del Tribunal



.....
Ph.D. Milton Rubén Ramos Moya

C.I. 180111963-5



.....
Ph.D. Freddy David Escobar Terán

C.I. 171529005-0

Ambato, 07 de Noviembre del 2019

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.



.....
Srta. Erika Vanessa Telenchana Pérez

C.I. 180539522-3

AUTORA

DEDICATORIA

A Dios

Porque con su infinito amor me dio la vida y fuerza que necesitaba día a día para llegar a cumplir mis metas y aspiraciones, ya que sin él nada sería posible.

A mis padres

Nelson y Francia, los pilares de mi vida, ya que con su esfuerzo, apoyo y consejos me han convertido en el ser humano que ahora soy, aquí está reflejado el fruto de su esfuerzo papitos.

A mi hermano

Marlon, mi cómplice y mejor amigo, por su amor y apoyo en todo momento, el único y mejor hermano que Dios pudo darme.

AGRADECIMIENTOS

Gracias papitos por su esfuerzo, sin su apoyo no hubiera alcanzado este logro tan importante en mi vida. Por creer en mí a pesar de las dificultades que se presentaron en el camino, por no dejarme vencer por las adversidades y por sus palabras de aliento, sin ustedes nada sería igual.

A mi tutor PhD. Orestes López, por su apoyo en el desarrollo de mi tesis, su confianza y sobre todo el gran aporte en conocimientos que me ha brindado.

A mis amigos, gracias por estar cuando los he necesitado, por sus palabras de aliento en los momentos difíciles y sus sonrisas en los momentos de alegría. Tefita, Lizbeth, Andrés.

A Fabricio, por el apoyo que me ha brindado, por su amor sincero e incondicional y estar conmigo en las buenas y malas.

A la Universidad Técnica de Ambato y los docentes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos quienes han aportado con invaluable conocimientos que han permitido formarme profesionalmente.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	15
1.1. Antecedentes investigativos	15
1.1.1 Descripción de la planta.....	15
1.1.1.1 Berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	15
1.1.2 Taxonomía.....	16
1.1.3 Compuestos fitoquímicos en <i>Solanum melongena</i>	16
1.1.4 Antocianinas.....	17
1.1.5 Estructura química	17
1.1.6 Mecanismo de acción de un antioxidante	18
1.1.7 Importancia de las antocianinas	19
1.1.8 Microencapsulación	19
1.2 Hipótesis.....	21
1.2.1 Hipótesis nula.....	21
1.2.2 Hipótesis alternativa.....	21
1.3 Señalamiento de variables de la hipótesis	21
1.3.1 Variables dependientes.....	21

1.3.2 Variables independientes	21
1.4 Objetivos	21
1.4.1 Objetivo General	21
1.4.2 Objetivos específicos	21
CAPÍTULO II	22
2.1 Materiales.....	22
2.1.1 Recursos materiales.....	22
2.1.2 Reactivos	22
2.1.3 Recursos tecnológicos.....	23
2.2 Métodos.....	24
2.2.1 Trabajo de campo.....	24
2.2.2 Caracterización físico-química de la berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	24
2.2.2.1 Caracterización física	24
2.2.2.2 Caracterización química.....	25
2.2.3 Preparación del material vegetal	26
2.2.4 Obtención del extracto vegetal líquido	26
2.2.5 Análisis de los extractos obtenidos	26
2.2.5.1 Determinación de sólidos totales	26
2.2.5.2 Análisis espectrofotométrico de los extractos obtenidos	27
2.2.5.3 Microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión....	27
2.2.5.4 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR.....	28
2.2.5.5 Determinación del potencial antioxidante.....	29
2.2.5.6 Evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	31
2.2.6 Diseño Experimental.....	32
CAPÍTULO III.....	34
3.1 Análisis y discusión de resultados.....	34
3.1.1 Caracterización físico-química de la berenjena (<i>Solanum melongena</i>)	34
3.1.2 Obtención del extracto vegetal líquido	36
3.1.3 Microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión.....	39
3.1.4 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR	40
3.1.5 Determinación del potencial antioxidante.....	42
3.1.6. Evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	46
3.1.7 Verificación de la Hipótesis	48
CAPÍTULO IV.....	49

4.1 CONCLUSIONES	49
4.2 RECOMENDACIONES	50
MATERIAL DE REFERENCIA	51
5.1 Referencias Bibliográficas	51
ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales características de la planta <i>Solanum melongena</i>	16
Tabla 2. Taxonomía (<i>Solanum melongena</i>)	16
Tabla 3. Estructura básica y principales antocianinas identificadas.	18
Tabla 4. Estructura del diseño experimental.	33
Tabla 5. Distribución de tratamientos.	33
Tabla 6. Parámetros físicos de la Berenjena.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frutos de <i>Solanum melongena</i> . Fuente:(Newman, n.d.)	15
Figura 2. Diagrama de Pareto estandarizado de los factores que influyen en proceso de extracción de antocianinas.....	37
Figura 3. A) Gráfico de efectos principales; B) Superficie de respuesta estimada para la concentración de antocianinas (mg/100g).....	38
Figura 4. Comparación de % de eficiencia de microencapsulación con maltodextrina y mezcla (maltodextrina-goma arábica).....	40
Figura 5. Espectrofotometría Infrarroja FT-IR realizada a las muestras sin microencapsular, microencapsuladas y de las matrices poliméricas.	41
Figura 6. Diagrama de cajas y bigotes: comparación de la actividad antioxidante in vitro de los microencapsulados.	43
Figura 7. Curvas de crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para la evaluación de la actividad antioxidante in vivo.	45
Figura 8. Comparación del % de actividad inflamatoria de los microencapsulados con el antiinflamatorio testigo.	47

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Cálculo de la densidad.....	25
Ecuación 2. Determinación de sólidos totales.....	26
Ecuación 3. Concentración de antocianinas.....	27
Ecuación 4. Eficiencia de la microencapsulación.....	28
Ecuación 5. Porcentaje de inhibición de DPPH.....	29
Ecuación 6. Porcentaje de actividad antiinflamatoria.....	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Determinación de las características físicas de la Berenjena (<i>Solanum melongena</i>).....	59
Anexo 2. Modelo de color CIELab e interpretación y escala de los parámetros de color del sistema.....	60
Anexo 3. Determinación del color en base a Encycolorpedia.....	61
Anexo 4. Escala de maduración de la Berenjena.....	61
Anexo 5. Determinación de características químicas de la Berenjena (<i>Solanum melongena</i>).....	62
Anexo 6. Datos de la extracción y cuantificación de antocianinas mediante espectrofotometría UV-Vis.....	63
Anexo 7. Análisis de Varianza para determinar la concentración de antocianinas... ..	64
Anexo 8. Porcentaje de eficiencia de microencapsulación con Maltodextrina y Mezcla (maltodextrina-goma arábica).....	64
Anexo 9. Análisis de Varianza para determinar la eficiencia de microencapsulación.....	65
Anexo 10. Análisis de Varianza para determinar el potencial antioxidante in vitro.....	65
Anexo 11. Resultados de la inhibición por DPPH (in vitro).....	66
Anexo 12. Absorbancias máximas de las curvas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> a diferentes concentraciones de agentes oxidantes y antioxidantes.....	67
Anexo 13. Análisis de Varianza para determinar el potencial antiinflamatorio del producto microencapsulado.....	67

RESUMEN EJECUTIVO

La inestabilidad de los pigmentos naturales dificulta su utilización, por esto el estudio del proceso de extracción y conservación de los mismos incrementará su estabilidad, manteniendo sus propiedades. La presente investigación se basó en la extracción, microencapsulación y evaluación de propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de antocianinas extraídas de cáscaras de berenjena (*Solanum melongena*). Mediante un diseño experimental 2^2 , se determinó que las condiciones óptimas de la extracción son con una relación material vegetal/volumen de disolvente de 1:25, temperatura de 70 ± 2 °C y tiempo de extracción de 60 min. Se realizó la microencapsulación del compuesto bioactivo mediante secado por aspersion, utilizando dos matrices poliméricas (maltodextrina y goma arábica), se obtuvo una eficiencia de 91,28 % para el microencapsulado con la mezcla de estos dos polímeros, mientras que para la maltodextrina fue de 79,85 %. Para evaluar las propiedades antioxidantes se utilizó el método de DPPH, se obtuvo un porcentaje máximo de 257,88 y 307,19 μmol equivalentes de Trolox/g de microencapsulado, para el caso de la maltodextrina y la mezcla respectivamente, además se evaluó la curva de crecimiento de la levadura *S. cerevisiae* sometida a estrés oxidativo y se demostró que los microencapsulados protegen al microorganismo del agente oxidativo. El método de estabilización de membrana de eritrocitos determinó que a una concentración de 2 mg/ml para el microencapsulado con maltodextrina y 2,5 mg/ml para el caso de la mezcla de polímeros, se obtiene una actividad antiinflamatoria de 89,61 % y 77,17 % respectivamente, superando la actividad del fármaco comercial.

Palabras clave: Bioactivo, microencapsulación, secado por aspersion, extracción.

ABSTRACT

The instability of natural pigments makes it difficult to use, so the study of their extraction and conservation process will increase their stability, maintaining their properties. This research was based on the extraction, microencapsulation and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory capacity of anthocyanins from eggplant shells (*Solanum melongena*). An experimental design 2^2 was carried out, which was determined that the optimal conditions of the extraction are with a plant material/solvent volume ratio of 1:25, a temperature of 70 ± 2 °C and extraction time of 60 min. The microencapsulation of the bioactive compound was performed by spray drying, using two polymeric matrices (maltodextrin and gum arabic), an efficiency of 91.28% was obtained for microencapsulation with the mixture of these two polymers, while for maltodextrin it was 79.85 %. To evaluate the antioxidant properties, the DPPH method was used, a maximum percentage of 257,88 and 307,19 μmol equivalents of Trolox/g of microencapsulated was obtained, for the case of maltodextrin and mixture respectively, the curve was also evaluated of growth of yeast *S. cerevisiae* subjected to oxidative stress and it was shown that microencapsulates protect the microorganism from the oxidative agent. The erythrocyte membrane stabilization method it was determined that at a concentration of 2 mg/ml for the microencapsulation with maltodextrin and 2,5 mg/ml for the case of the polymer mixture, an anti-inflammatory activity of 89,61 % is obtained and 77,17 % respectively, exceeding the activity of the commercial drug.

Keywords: Bioactive, microencapsulation, spray drying, extraction.

CAPÍTULO I

MARCO TEORICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1 Descripción de la planta

1.1.1.1 Berenjena (*Solanum melongena*)

Solanum melongena es una planta originaria del Viejo Mundo que incluye parientes silvestres y herbáceos, *Solanum* proviene del vocablo Latino equivalente al Griego *strychnos* que significa “sol” y *Melongena* proviene del vocablo griego *byzantino*, que significa “negro”, se cree que fue introducida a Europa por comercio árabe e incorporada en Norteamérica por los primeros colonos europeos (Magioli & Mansur, 2006). Es un cultivo que se desarrolla a temperatura media entre 21 y 29 °C, en climas cálidos o secos (La, La, & Técnica, 2015). Se conoce que el cultivo de berenjena se encuentra en las provincias de Manabí, Chimborazo y Pichincha, siendo el mayor productor la provincia de Manabí. La berenjena es utilizada para el tratamiento de varias enfermedades como la diabetes, la artritis y el asma. Los extractos poseen un efecto significativo en la reducción de las tasas de colesterol en la sangre y el hígado, además se ha demostrado que sus pigmentos (antocianinas) inhiben la peroxidación lipídica (Magioli & Mansur, 2006).



Figura 1. Frutos de *Solanum melongena*. Fuente:(Newman, n.d.)

Tabla 1. Principales características de la planta *Solanum melongena*

Partes	Descripción
Tallos	0,7-1,0 m de altura, 2-4 por planta.
Hojas	Presentan forma ovalada y grande (15-25 cm de largo), con nerviaciones y espinas; insertas de forma alterna en el tallo.
Flores	Presentan color violáceo, ramilletes de 3-4 por planta, cáliz de 5 o más sépalos espinosos.
Fruto	Baya alargada o globosa de color negro, morado, blanco, blanco jaspeado de morado o verde, de tamaño muy pequeño (2 cm) a grandes (30 cm de largo), epidermis lisa o corrugada.

Fuente: (Cuba. Comisión Nacional Asesora en Investigaciones de Plantas Medicinales., Montes de Oca-Rojas, & Domínguez-Mesa, 1996)

1.1.2 Taxonomía

Tabla 2. Taxonomía (*Solanum melongena*)

Característica	Descripción
Nombre común	Berenjena, Brinjal, Talung
Reino	Plantae
Superdivisión	Streptophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i> L.
Especie	<i>Solanum melongena</i> L.

Fuente: Integrated Taxonomic Information System (ITIS), 2019; (Linnaeus, 1753)

1.1.3 Compuestos fitoquímicos en *Solanum melongena*

Los compuestos fitoquímicos son metabolitos secundarios presentes en plantas. En *Solanum melongena*, se han identificado varios compuestos químicos principalmente en su fruto, se han determinado aproximadamente 115 compuestos, siendo los más abundantes los aminoácidos, seguidos por ácidos carboxílicos, alcaloides, amins, flavonoides y oligoelementos (Cuba. Comisión Nacional Asesora en Investigaciones de Plantas Medicinales. et al., 1996). Se han identificado antocianinas responsables de la coloración característica del fruto (morado), las que

presentan actividad antioxidante. Mediante análisis de HPLC-DAD-MS3 se ha determinado que el mayor contenido corresponde al tipo delphinidina específicamente delphinidina-3-rutinosido (**Sadilova, Stintzing, & Carle, 2006**). Otro componente químico es el ácido clorogénico que constituye entre un 70 y 90 % del contenido total de polifenoles de la berenjena, siendo el conjugado dominante (**Stommel & Whitaker, 2003**). El contenido de estos compuestos está influenciado por la etapa de desarrollo de la planta, diversos factores ambientales y condicionales de almacenamiento. En la actualidad se busca mejorar la calidad nutracéutica en hortalizas haciendo que incremente el contenido correspondiente a fitoquímicos.

1.1.4 Antocianinas

Son consideradas como el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles vacuolares encontrados en plantas, pertenecen a la familia de compuestos de tipo fenólico, específicamente clasificadas en el grupo de flavonoides. Actualmente se han identificado 650 tipos de antocianinas, estas son responsables de las tonalidades azules, púrpuras, rojas e intermedios de frutas y vegetales, su color dependerá de los sustituyentes químicos que contengan y su posición en el grupo flavilio (**Clifford, 2000**).

1.1.5 Estructura química

Todas las antocianinas están compuestas de una estructura básica que es la aglicona (flavilio o 2-fenilbenzopirilio), el azúcar (unido mediante un enlace β -glucosídico) y frecuentemente un grupo acilo (**Ozela, Stringheta, & Chauca, 2007**). La estructura más importante de las antocianinas es su aglicona que contiene dobles enlaces conjugados encargados de la absorción de la luz a una determinada longitud de onda haciendo posible observar los colores característicos de las antocianinas. Las agliconas son conocidas como antocianidinas que pueden ser penta (3, 5, 7, 3', 4') o hexa-sustituídas (3, 5, 7, 3', 4', 5'), de las 22 antocianidinas identificadas seis de ellas son las más importantes desde el punto de vista alimenticio (ver tabla 3). Las antocianidinas difieren en el número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B del catión flavilio a diferencia de las antocianinas como tal son menos solubles y estables en agua (**Rein, 2005**).

Tabla 3. Estructura básica y principales antocianinas identificadas.

Antocianina	Estructura básica	R ₁	R ₂	R ₃	Color principal	Fuentes
Cianidina		-OH	-OH	-H	Naranja-rojizo	Manzana, saúco, nectarino, mora, ciruela, melocotón
Delfinidina		-OH	-OH	-OH	Púrpura, azul	Uvas, berenjena
Pelargonidina		-H	-OH	-H	Naranja	Rábanos, frijoles
Malvidina		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	Púrpura	Uvas
Ponidina		-OCH ₃	-OH	-H	Rojo-púrpura	Arándanos, ciruelas, uvas, maíz morado
Petunidina		-OH	-OH	-OCH ₃	Rojo-oscuro o púrpura	Uvas, vayas rojas

Dentro de los factores que afectan la coloración y estabilidad de estos compuestos se incluye a la temperatura, pH, luz, presencia de copigmentos, iones metálicos, entre otros. Para la extracción de antocianinas es aconsejable utilizar muestras secas, liofilizadas o congeladas, comúnmente se utilizan extracciones sólido-líquido, cuando se utiliza material vegetal seco se emplean disolventes, la característica polar de la molécula de las antocianinas hace posible aprovechar una amplia gama de disolventes, como alcoholes, acetona, agua o una mezcla (**Kechinski, Guimarães, Noreña, Tessaro, & Marczak, 2010**).

1.1.6 Mecanismo de acción de un antioxidante

Los antioxidantes pueden ejercer su efecto a través de diferentes mecanismos, entre estas se destaca la eliminación de especies que inician la peroxidación, a través de la desactivación del catalizador que inicia la cadena; otro mecanismo es la ruptura de cadena, mediante el cual un electrón es donado al radical libre presente en el sistema, sin embargo en este mecanismo los antioxidantes difieren en su efectividad dependiendo de sus características químicas (**Vaya & Aviram, 2005**). En sistemas biológicos pueden reducir la concentración localizada de especies reactivas de oxígeno además de quelar iones metálicos de manera que son incapaces de generar especies reactivas o descomponer peróxidos lipídicos, los co-antioxidantes o la regulación de la expresión génica (**Lobo, Patil, Phatak, & Chandra, 2010**).

Los antioxidantes más efectivos son aquellos que interrumpen la reacción en cadena de los radicales libres. Debido a que contienen anillos aromáticos o fenólicos, estos antioxidantes donan H• a los radicales libres formados durante la oxidación

convirtiéndose en un radical. Estos intermedios radicales se estabilizan mediante la deslocalización por resonancia del electrón dentro del anillo aromático y la formación de estructuras de quinona (**Brewer, 2011**).

1.1.7 Importancia de las antocianinas

Muchos estudios han demostrado los efectos benéficos de compuestos polifenólicos, utilizando modelos *in vitro* e *in vivo*. Mediante modelos *in vitro* se ha demostrado que las antocianinas actúan como potentes antioxidantes capturando radicales libres, además terminan la cadena de reacciones encargada del daño oxidativo. El ensayo de Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) demuestra que la capacidad antioxidante de diversas antocianinas tienen hasta 3,5 veces la capacidad antioxidante del Trolox (equivalente a la vitamina E) (**Wang, Cao, & Prior, 1997**).

Las antocianinas muestran varios beneficios enfocados principalmente a la salud humana, entre los que se destacan está la protección contra enfermedades de tipo coronario, que está relacionada con la capacidad de inhibir la peroxidación de lípidos y la agregación de plaquetas (**Kes & Bašić-Jukić, 2009**). Estudios demuestran los efectos antiinflamatorios de las antocianinas, especialmente el tipo delphinidinas, que actúan en la inhibición de hasta un 12 % de las enzimas COX (ciclooxigenasas) y LOX (lipoxigenasa), enzimas que actúan en la reacción defensiva del tejido frente a estímulos nocivos (**Vareed, Reddy, Schutzki, & Nair, 2006**). Las antocianinas además presentan actividad anticarcinogénica, comprobada en sistemas *in vitro*, también poseen la facultad de prevenir la obesidad ya que su consumo disminuye la función de los adipositos (**Chem, 2008**).

1.1.8 Microencapsulación

La estabilidad es uno de los aspectos a considerar para la utilización de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes, esto es posible utilizando tecnologías de microencapsulación. La microencapsulación es un proceso mediante el cual pequeñas partículas se encuentran rodeadas por una matriz homogénea o heterogénea, creando una barrera física entre el compuesto central y los otros componentes de un producto mejorando así su estabilidad (**Gharsallaoui & Chambin, 2007**). Este proceso

tecnológico da como resultado un producto denominado como “microcápsula”, “micropartícula” o “microesfera”, mismos que se diferencian por su conformación interna y morfológica (Saez, Hernández, & Peniche, 2007). Según (Yang, Yin, Zhou, Gu, & Li, 2010) en el caso de las microesferas el principio activo se encuentra disperso en forma de diminutas partículas en una matriz que puede ser igual al recubrimiento, durante la atomización esta mezcla se pulveriza, y por acción del aire caliente el disolvente se evapora, dando como resultado este tipo de producto.

Spray drying es una tecnología que consiste en una operación unitaria que transforma un fluido alimentado de manera continua, a partículas secas, al rociar la materia alimentada en un medio de secado en caliente. Esta es una de las técnicas de microencapsulación más comúnmente utilizadas debido a su bajo costo, amplia disponibilidad del equipo, alta calidad de las microesferas con buen rendimiento y buena estabilidad del producto final. Se utiliza ampliamente en la industria alimenticia y farmacéutica ya que en comparación con otras técnicas de microencapsulación convencionales, ofrece la ventaja de producir microesferas en una operación de procesamiento continuo simple, aproximadamente el 80-90 % de los encapsulados de antocianinas se secan por esta técnica (Mahdavi, Jafari, & Ghorbani, 2014).

La eficiencia de la microencapsulación y estabilidad de las microesferas depende en gran medida de la composición del material de la pared, ya que este actúa como una barrera y protege al núcleo de agentes como oxígeno, agua y luz, además de controlar su difusión. Los materiales para microencapsulación no deben reaccionar con el material a encapsular, proporcionar la máxima protección del núcleo contra condiciones ambientales, ser barato, ser de grado alimenticio y legalmente permitido además de estar disponible en grandes cantidades (Mahdavi et al., 2014). Existen diferentes matrices de encapsulación para esta técnica entre estos se incluye a polisacáridos como almidones, maltodextrinas, jarabes de maíz, goma arábiga y carboximetilcelulosa; lípidos como ácido esteárico; proteínas entre las que se destacan gelatina, caseína, suero de leche y trigo (Saénz, Tapia, Chávez, & Robert, 2009). La maltodextrina es el material más ampliamente usado como matriz en un proceso de Spray drying, ya que satisface la demanda y es de bajo costo. Actualmente se utiliza una mezcla maltodextrina (60 %) con goma arábiga (40 %) como matriz encapsulante (Shahidi & Han, 2015).

1.2 Hipótesis

1.2.1 Hipótesis nula

H₀: Los extractos microencapsulados no presentarán potencial como agentes antioxidantes y antiinflamatorios.

1.2.2 Hipótesis alternativa

H₁: Los extractos microencapsulados presentarán potencial como agentes antioxidantes y antiinflamatorios.

1.3 Señalamiento de variables de la hipótesis

1.3.1 Variables dependientes

- Propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

1.3.2 Variables independientes

- Extractos microencapsulados, relación material vegetal/ volumen de disolvente y tiempo de extracción.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Extraer antocianinas a partir de cáscaras de Berenjena (*Solanum melongena*).

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar las características físico-químicas de la Berenjena (*Solanum melongena*).
- Establecer las condiciones del proceso de extracción de antocianinas presentes en las cáscaras de Berenjena (*Solanum melongena*) mediante un diseño experimental de Superficie de Respuesta.
- Microencapsular las antocianinas extraídas mediante secado por aspersion utilizando maltodextrina y goma arábica.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* del producto microencapsulado.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto microencapsulado utilizando el método de estabilización de membrana de eritrocitos.

CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1 Materiales

2.1.1 Recursos materiales

- Cáscaras de Berenjena (*Solanum melongena*)
- Material de vidrio PYREX-GLASSCO: balones de aforo, matraces Erlenmeyer, pipetas, probetas graduadas de 100 ml.
- Tubos Falcon de 50 y 15 ml.
- Frascos de vidrio ámbar de 50 y 1000 ml.
- Micropipetas 10-1000 y 20-200 μ l.
- Magnetos Elicrom.
- Placa de 96 pocillos para espectrofotómetro.
- Papel de Aluminio y fundas herméticas.
- Material de escritorio: computadora, esferos, papel bond.

2.1.2 Reactivos

- Agua destilada.
- Etanol al 96 % de pureza Scharlau
- Ácido clorhídrico al 37 % ThermoFisher
- Maltodextrina Roig Pharma
- Goma Arábica Roig Pharma
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)
- Trolox (6-hydroxy-2 5 7 8-tetramethyl chroman-2-carboxylic ácido 97 %)
- Medio PDA
- Medio YPD
- Vitamina C
- Peróxido de hidrógeno
- Tubos con anticoagulante EDTA
- Ácido salicílico
- Solución tampón fosfato (PBS) pH 7,4

2.1.3 Recursos tecnológicos

- Balanza analítica Ohauspioneer
- Balanza de humedad Kern MLS 50-3
- Destilador de agua QUIMIS
- Calibrador Pie de rey BP GOLD
- Colorímetro Lovibond LC 100
- Plancha de calentamiento ThermoScientific
- Refrigerador Indura
- Molino de cuchillas INOX-EQUIP
- Horno secador GANDER MTN
- pH-metro digital marca ORION 420A
- Centrífuga (Hettich Zentrifugen, Germany)
- Espectrofotómetro UV-VIS Fisher Scientific accuSkan Go
- Espectrofotómetro infrarrojo Jasco FT/IR 4100
- Computador Dell Inspiron 15R con sistema operativo Windows 10
- Mini Spray Dryer BUCHI-B290
- Rotoevaporador IKA HB10
- Software de análisis de datos estadístico y gráfico, Statgraphics XVII 64x

2.2 Métodos

2.2.1 Trabajo de campo

Las berenjenas son provenientes de la provincia de Manabí, fueron adquiridas en el Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato, ubicado al suroriente de la ciudad en la provincia de Tungurahua. Fueron trasladadas a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, su tratamiento se llevó a cabo en los laboratorios de la Unidad Operativa de Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE).

2.2.2 Caracterización físico-química de la berenjena (*Solanum melongena*)

2.2.2.1 Caracterización física

2.2.2.1.1 Determinación del tamaño

Para la determinación del tamaño se utilizó un Calibrador Pie de rey (BP GOLD). Se midió la longitud y el diámetro de diez muestras, tomando el registro de datos en unidades de centímetros.

2.2.2.2.1.2 Determinación del peso

Se utilizó una balanza analítica (Ohauspioneer), con una precisión de calibrado de 0,1 g, donde se registró la lectura de diez unidades de berenjena y posteriormente se determinó el valor promedio de estas réplicas.

2.2.2.2.1.3 Determinación del volumen

Se utilizó como base el principio de Arquímedes, el cual indica que “El volumen del líquido desplazado por un cuerpo al sumergirse es igual al volumen de la parte sumergida del cuerpo”, debido a que el cuerpo sumergido total o parcialmente experimenta una fuerza ascendente igual al empuje del peso del líquido que se desplaza (Espinosa & Sánchez, 2014). Se utilizó un vaso de precipitado de 300 ml, colocado sobre un recipiente en el que se recoge el agua desplazada, posteriormente se introdujo la berenjena y el volumen de agua desplazado fue medido en una probeta. La cantidad de agua medida será igual al volumen de la berenjena, este ensayo se realizó diez veces y posteriormente se tomó un promedio de las mediciones.

2.2.2.2.1.4 Determinación de densidad

Para el cálculo de la densidad se utilizaron los datos obtenidos previamente de peso y volumen de la berenjena y se calculó utilizando la ecuación 1:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Ecuación 1. Cálculo de la densidad.

Dónde (ρ) es el símbolo de densidad, (m) es la masa en gramos, y (v) el volumen expresado en mililitros.

2.2.2.2.1.5 Determinación de color

Se utilizó un colorímetro (Lovibond LC 100) previamente calibrado, la medición se realizó en tres puntos diferentes de la misma muestra. La escala que se utilizó es la CIELab, cuyo sistema cartesiano está definido por tres coordenadas colorimétricas adimensionales ($L^* a^* b^*$), este sistema tiene similitud con la uniformidad visual humana (Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, 2014).

2.2.2.2 Caracterización química

2.2.2.2.1 Determinación del Potencial de Hidrógeno (pH)

Se utilizó un pH-metro digital (ORION 420A), tomando como referencia la metodología descrita por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN-ISO 1842, 2013), realizando una medición directa en una solución de agua destilada (45 ml) con 5 g de muestra previamente tratada.

2.2.2.2.2 Determinación de Sólidos solubles (° Brix)

Se utilizó un refractómetro digital (ATAGO Pocket-Japón) y se tomó como referencia la metodología de refractometría descrita por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN-ISO 2173, 2013).

2.2.3 Preparación del material vegetal

Las berenjenas fueron lavadas y peladas, ya que para la extracción será utilizada únicamente su cáscara. Se cortó las cáscaras en trozos pequeños para facilitar el proceso de secado, este proceso se realizó en un horno secador (Gander MTN) durante 24 horas a una temperatura de 140 °F (60 °C). El material seco obtenido se trituroó en un molino de cuchillas con el objetivo de obtener un polvo lo suficientemente fino para realizar las siguientes pruebas y fue almacenado en fundas ziploc.

2.2.4 Obtención de extractos vegetales líquidos

Una vez obtenida la harina de la cáscara de berenjena se procedió a la extracción de antocianinas, para la extracción se analizaron dos factores, relación materia vegetal/volumen de disolvente (1/20 y 1/25); y el tiempo de extracción (60 y 120 min), cada uno con tres réplicas. Para la elaboración del disolvente se utilizó etanol al 96 % de pureza y ácido clorhídrico 37 % (relación 85:15). Para la proporción 1/20 se pesó 2 g de la muestra en una balanza analítica (OhausPioneer) y se mezcló con 50 ml de disolvente. Para la proporción 1/25 se pesó 2,5 g de la muestra en una balanza analítica (OhausPioneer) y se añadió 50 ml del disolvente. Las muestras fueron depositadas en matraces de Erlenmeyer (PYREX) cubiertos con papel aluminio para disminuir la evaporación excesiva del disolvente, luego fueron colocadas en una plancha de calentamiento (ThermoScientific) durante los tiempos establecidos a una temperatura constante de 70 °C. Finalizado este proceso se centrifugó la mezcla a 3000 min⁻¹ durante 10 min, una vez centrifugado se colocó el sobrenadante en frascos ámbar y el precipitado se desechó.

2.2.5 Análisis de los extractos obtenidos

2.2.5.1 Determinación de sólidos totales

Para determinar la humedad residual de cada extracto se utilizó una balanza de humedad (Kern MLS 50-3) realizando mediciones por triplicado. El valor de porcentaje de sólidos totales extraídos (% SST) se calculó con la ecuación 2:

$$\% SST = 100 - \% humedad$$

Ecuación 2. Determinación de sólidos totales.

2.2.5.2 Análisis espectrofotométrico de los extractos obtenidos

Para determinar la absorbancia de cada extracto se utilizó un espectrofotómetro (UV-VIS Fisher ScientificacuSkanGo), a una longitud de onda de 554 nm, utilizando etanol como blanco. Esta longitud de onda dependerá de la muestra que está siendo analizada, misma que corresponde al punto en donde la absorbancia del analito se maximiza. Dicha longitud se determinó mediante un barrido espectral, utilizando un rango de 300 a 800 nm que permitió visualizar la variación de la absorbancia con la longitud de onda de radiación electromagnética, haciendo posible la elección de la longitud de onda óptima que permitirá cuantificar el contenido de antocianinas del extracto. Para la cuantificación de antocianinas se utilizó el modelo de (**Abdel-Aal & Hucl, 1999**), siguiendo la ecuación 3.

$$C = \frac{A}{\epsilon} \times \frac{Vol}{1000} \times MW \times \frac{1}{samplewt} \times 10^6$$

Ecuación 3. Concentración de antocianinas.

Donde (C) es la concentración de antocianinas en mg/100 g, (A) es la absorbancia, (ϵ) es la absortividad molar del compuesto delfinidina 34700 (**Giusti, Rodríguez-Saona, & Wrolstad, 1999**), (Vol) el volumen total del extracto de antocianinas, (MW) el peso molecular de la delfinidina 356,5 g/mol.

2.2.5.3 Microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión

Una vez obtenido el extracto se concentró en un rotoevaporador (IKA HB10) a una temperatura de 70 °C y una velocidad de agitación de 150 min⁻¹, lo que permitió la destilación del disolvente de la mezcla. Posteriormente se midió el volumen del concentrado obtenido y se determinó el contenido de humedad por triplicado, para calcular el porcentaje de sólidos totales utilizando la ecuación 2. El extracto se almacenó en un frasco de vidrio ámbar a una temperatura de refrigeración de 4 °C, haciendo que el metabolito no se degrade por efecto de temperatura y luz.

Se preparó una dispersión tomando en cuenta el resultado de sólidos totales obtenido previamente, con una relación de 20:80, utilizando maltodextrina, agua destilada y extracto concentrado, además se elaboró otra en la que se combinaron las matrices,

maltodextrina y goma arábica. Las mezclas fueron llevadas a una plancha de calentamiento a 45 °C y 500 min⁻¹, hasta su completa homogeneización.

Para la microencapsulación se utilizó el equipo Mini Spray Dryer BUCHI-B290, el cual fue alimentado con las respectivas mezclas, se verificó previamente que las condiciones del equipo sean las adecuadas, con una presión de (-50 mbar), temperatura de entrada de 150 °C y de salida de 90 °C controlada por el flujo de aire y de agua. El producto microencapsulado resultante se almacenó en fundas herméticamente cerradas.

Se calculó la eficiencia de la microencapsulación utilizando la ecuación 4, la que relaciona la concentración de antocianinas totales y superficiales o libres (**Figueroa Martínez, Hurtado Benavides, & Ceballos Ortíz, 2016**). Para esto se mezcló 1,5 g de microencapsulado en 15 ml de agua destilada y se agitó durante 10 min. Este proceso se repitió sustituyendo el agua destilada por etanol al 70 %. Finalmente se midieron las absorbancias de las muestras en un espectrofotómetro.

$$EE(\%) = \frac{CT_{agua} - CS_{etanol}}{CT_{agua}} * 100$$

Ecuación 4. Eficiencia de la microencapsulación.

Donde (*EE*(%)) es eficiencia de la microencapsulación, (*CT_{agua}*) antocianinas totales presentes en las microesferas y (*CS_{etanol}*) antocianinas superficiales presentes en las microesferas.

2.2.5.4 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR

Este análisis se llevó a cabo en la Escuela Politécnica del Chimborazo ESPOCH, en la Facultad de Ciencias, Laboratorio de Química Instrumental, mediante el uso del espectroscopio infrarrojo (Jasco FT/IR 4100). Se analizaron las microesferas, matrices poliméricas y el extracto concentrado rico en antocianinas con un intervalo de frecuencia de barrido de 4180 cm⁻¹ y 580 cm⁻¹ y un porcentaje de transmitancia entre 0 y 110 %.

2.2.5.5 Determinación del potencial antioxidante

2.2.5.5.1 Determinación del potencial antioxidante *in vitro*

La cuantificación de la actividad antioxidante *in vitro* se basó en lo descrito por Bobo-García et al., 2015, técnica que utiliza DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), la cual al poseer un electrón desapareado reacciona con el compuesto antioxidante (**Bobo-García et al., 2015**). Para obtener la curva de calibración se utilizó como estándar una solución madre de Trolox (análogo de vitamina E) de concentración 500 $\mu\text{mol l}^{-1}$. A partir de esta solución se realizaron diluciones a diferentes concentraciones (50, 100, 200, 300, 400 y 500 $\mu\text{mol l}^{-1}$). Para preparar las soluciones se utilizó como disolvente una solución de agua-metanol en una proporción 80:20. Previamente se preparó una solución de DPPH (Sigma-Aldrich, USA) de 150 $\mu\text{mol l}^{-1}$ utilizando el mismo disolvente agua-metanol preparado con anterioridad.

Para la medición en el espectro se utilizó la placa de 96 pocillos en la que se añadió el blanco preparado con 180 μl de metanol al 80 % y 20 μl de agua, el control conformado por 180 μl de DPPH y 20 μl de agua destilada. Se colocó 20 μl de las muestras previamente diluidas, con 180 μl de DPPH previamente elaborado. Posteriormente se agitó la placa durante 60 segundos y se incubó la placa durante 40 minutos en la oscuridad a una temperatura de 25 °C y posteriormente se leyó a una absorbancia de 515 nm. Se realizaron 4 réplicas del blanco, control, estándares y muestras.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó a través de la ecuación 5, se realizó la curva de calibración con el porcentaje de inhibición de DPPH Vs. concentración $\mu\text{mol/l}$ de trolox y a partir de la ecuación lineal obtenida, se determinó el contenido de μmol equivalente de Trolox/g de microencapsulado.

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right] * 100$$

Ecuación 5. Porcentaje de inhibición de DPPH.

Donde (A_m) es la absorbancia de la muestra, (A_b) la absorbancia del blanco reactivo y (A_c) la absorbancia de control.

2.2.5.5.2 Determinación del potencial antioxidante *in vivo* utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo

2.2.5.5.2.1 Aislamiento de levadura

Las levaduras fueron aisladas mediante siembra por estría compuesta, en medio PDA (Merck, Alemania) a partir de un sobre de levadura comercial (Levapan, Ecuador). Fueron incubadas durante 72 h a 28 °C y posteriormente conservadas en refrigeración a 4 °C.

2.2.5.5.2.2 Determinación de la actividad antioxidante

Se preparó 200 ml de medio YPD (2 g extracto de levadura, 4 g peptona, 4 g glucosa, agua destilada), se tomó una colonia de *S. cerevisiae* y se inoculó en 5 ml de medio YPD, se mantuvo la muestra en incubación durante 6 h a 28 °C y 100 min⁻¹, posteriormente, se realizó una dilución 1/10 de este cultivo y se colocaron 5 µl del mismo en un tubo con 3 ml de medio líquido fresco YPD, se adicionó además 1 ml de muestra de microencapsulados previamente preparados a dos diferentes concentraciones, la primera de 50 mg/ml (1 g de microencapsulado en 20 ml de agua destilada) y la otra de 25 mg/ml (0,5 g de microencapsulado en 20 ml de agua destilada).

Como control positivo se utilizó vitamina C a diferentes concentraciones para inducir una respuesta antioxidante. Se tomaron 5 µl del tubo con la dilución de 1/10 y se colocó en 3 ml de medio YPD líquido fresco conjuntamente con 1 ml de vitamina C a una concentración de 50 mg/ml (1 g de vitamina C en 20 ml de agua destilada) y a una segunda concentración de 25 mg/ml (0,5 g de vitamina C en 20 ml de agua destilada).

Los controles negativos constaron de cultivos sin agentes antioxidantes, se prepararon tomando 5 µl del tubo con la dilución de 1/10 y se colocó en 3 ml de medio YPD líquido fresco.

Todas las muestras se mantuvieron en incubación durante un periodo de 18 h a 28 °C y 100 RPM. Posteriormente las muestras fueron llevadas a centrifugación durante 20 min a 2700 min⁻¹ a temperatura ambiente, el precipitado se diluyó en buffer PBS pH 7.4, hasta alcanzar una absorbancia de 0,1 a 600 nm (D.O₆₀₀) y se dejó reposar durante 30 min a 28 °C.

Para inducir el estrés oxidativo se añadió peróxido de hidrógeno (Ecuaquímica, Ecuador) a dos diferentes concentraciones. Se tomó 1 ml de concentración 0,5 mmol/l de H₂O₂ y se añadió a 3 ml de muestra con microencapsulado y vitamina C, de la misma forma se procedió con la concentración de 3 mmol/l. Las muestras fueron incubadas durante 1 h a 28 °C sin agitación. Finalizado este tiempo se centrifugó a 2700 min⁻¹ por 20 min y el pellet resultante fue resuspendido con 3 ml de medio YPD. Para las lecturas se utilizó el espectrofotómetro (UV-VIS Fisher ScientificacuSkanGo), se sembraron 250 µl de cada cultivo por triplicado en una placa de 96 pocillos. El crecimiento celular se controló durante 24 h a 28 °C, determinando la absorbancia a 600 nm en intervalos de 20 min con agitación antes de cada lectura.

2.2.5.6 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

2.2.5.6.1 Preparación de la solución de eritrocitos al 40 %

La solución de eritrocitos al 40 % se preparó utilizando la metodología de Kumar et al., 2011, realizando ciertas modificaciones. Se extrajo 5 ml de sangre humana de personas voluntarias sanas que no hayan consumido medicamentos antiinflamatorios durante 2 semanas antes, las muestras fueron colocadas en tubos heparinizados conjuntamente con anticoagulante EDTA. Posteriormente las muestras se llevaron a la centrífuga (HettichZentrifugen, Germany) durante 5 minutos a 3000 min⁻¹ para lograr la separación de fases, el sobrenadante (plasma sanguíneo) se desechó, mientras que al precipitado (eritrocitos) se le añadió 3 ml de solución tampón fosfato (PBS) pH 7,4. Esta mezcla fue llevada a la centrifuga durante 5 minutos a 3000 min⁻¹. El proceso fue repetido 4 veces más y en el lavado final se preparó la solución de eritrocitos al 40 % en PBS, pH 7,4 (Kumar, Bhat, Kumar, Bohra, & Sheela, 2011).

2.2.5.6.2 Determinación de la actividad antiinflamatoria mediante el método de estabilización de membrana de eritrocitos

Para la cuantificación de la actividad antiinflamatoria del microencapsulado se empleó la metodología descrita por Rashid, 2011 con algunas modificaciones del método. Se preparó una solución madre utilizando extracto seco y Buffer fosfato pH 7,4 teniendo

una concentración final de 40 mg/ml, partiendo de esta solución madre se prepararon soluciones (3 ml de solución de extracto vegetal en Buffer fosfato pH 7,4) de concentración 1; 1,5; 2; y 2,5 mg/ml. Para la solución patrón (concentración 40 mg/ml) se utilizó aspirina de 500 mg, a partir de esta se realizarán soluciones de concentración 1; 1,5; 2; y 2,5 mg/ml. Los ensayos se llevaron a cabo en 3 tubos de centrífuga de 15 ml (DO₁, DO₂, DO₃). Cada ensayo siguió las siguientes condiciones:

DO₁: se añadió 3 ml del extracto, 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % y se mezcló ligeramente el contenido. Se dejó reposar durante 20 minutos y luego se centrifugó por 10 minutos a 3000 min⁻¹.

DO₂: se añadió 3 ml del extracto, 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % y se mezcló ligeramente el contenido. Se sometió a baño María (54 °C) durante 20 minutos, luego se centrifugó durante 10 minutos a 3000 min⁻¹.

DO₃: se añadió 3 ml de Buffer fosfato (PBS) pH 7,4; 30 µL de la solución de glóbulos rojos al 40 % y se mezcló ligeramente el contenido. Se sometió a baño María (54 °C) durante 20 minutos y luego se centrifugó durante 10 minutos a 3000 min⁻¹.

Este procedimiento se llevó a cabo sustituyendo el extracto, por la solución de aspirina en las mismas concentraciones 1; 1,5; 2; y 2,5 mg/ml. Posteriormente se midió la absorbancia de los sobrenadantes de cada ensayo en el espectrofotómetro (UV-VIS Fisher Scientificacu Skan Go) a una longitud de onda de 540 nm. Como blanco de lectura se utilizó PBS y cada ensayo se realizó por triplicado. Se utilizó la ecuación 6 para determinar el porcentaje de actividad antiinflamatoria (**Rashid, 2011**):

$$\% \text{ Actividad antiinflamatoria} = \left(1 - \frac{DO_2 - DO_1}{DO_3 - DO_1} \right) * 100$$

Ecuación 6. Porcentaje de actividad antiinflamatoria.

2.2.6 Diseño Experimental

Para el procesamiento de los datos y la selección del mejor tratamiento del proceso de extracción de antocianinas se utilizó un diseño experimental 2² (AxB) con tres réplicas, basándose en un diseño de Superficie de Respuesta, este diseño permite examinar una respuesta que se puede mostrar como una superficie, cuando en el experimento se investiga el efecto de la variación de factores cuantitativos en los valores que puede

tomar una variable dependiente o de respuesta (Plata, Ramírez, & Riaño Luna, 2017). En las tablas 4 y 5 se observa los factores y combinaciones del diseño experimental.

Tabla 4. Estructura del diseño experimental.

FACTORES (AxB)	NIVELES
A: Relación material vegetal/volumen de disolvente (EtOH y HCl relación 85:15)	r₁: Relación 1:20
	r₂: Relación 1:25
B: Tiempo (min)	t₁: 60
	t₂: 120

Tabla 5. Distribución de tratamientos.

INTERACCIÓN	TRATAMIENTO
r₁ t₁	Relación 1:20, 60 minutos
r₁ t₂	Relación 1:20, 120 minutos
r₂ t₁	Relación 1:25, 60 minutos
r₂ t₂	Relación 1:25, 120 minutos

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el software estadístico Statgraphics Centurión versión XVII.I. Así mismo para los resultados de la actividad antioxidante y antiinflamatoria se utilizaron gráficas de comparación mediante el software antes mencionado.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de resultados

3.1.1 Caracterización físico-química de la berenjena (*Solanum melongena*)

3.1.1.1 Caracterización física

En la tabla 6 se presentan los resultados de la caracterización física de la berenjena (*Solanum melongena*) utilizada como materia prima para la extracción de antocianinas, se evidencia el valor promedio de las mediciones realizadas en cuanto a su diámetro, longitud, peso, volumen, densidad y color.

Tabla 6. Parámetros físicos de la Berenjena.

Parámetro	Resultado \bar{x}	
Diámetro (cm)	7,58	
Longitud (cm)	15,34	
Peso (g)	213,26	
Volumen (ml)	40,70	
Densidad (g/ml)	5,30	
Color	L*	25,93
	a*	5,31
	b*	2,74

Las variedades comerciales de berenjena que se encuentran en el mercado poseen un diámetro que oscila entre 7 y 10 cm, así mismo poseen una longitud que varía entre 12 y 20 cm (**Fornaris, 2006**), siendo estos valores contrastados con los obtenidos de 7,58 y 15,34, respectivamente. En cuanto al peso se obtuvo un valor promedio de 213,26 g, para el volumen se obtuvo un resultado de 40,7 ml, mientras para la densidad un valor de 5,3 g/ml, se recomienda realizar tamaños muestrales de 10 a 40 frutas, para así tener datos confiables (**Ruiz, 2017**). (Ver anexo 1)

3.1.1.1.1 Determinación del color

El color es considerado una propiedad organoléptica de los alimentos, en productos de origen vegetal se puede relacionar con el estado de madurez y su idoneidad (**Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, 2014**). Las mediciones de color se pueden realizar de forma visual (ojo humano), utilizando un instrumento como un colorímetro o a su vez haciendo uso de la visión digital (**Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, 2014**). En este caso se utilizó un colorímetro (Lovibond LC 100), y se utilizó la escala CIELab, este equipo trabajó comparando los valores de los parámetros obtenidos de la muestra con un estándar (Ver anexo 2).

En la tabla 6 se presentan los resultados promedios de los parámetros L^* , a^* y b^* , tomando en cuenta la escala de luminosidad, el valor obtenido es bajo y está enmarcado en las tonalidades oscuras, debido a la intensidad de sus pigmentos; en cuanto al parámetro a^* , su valor es positivo y por lo tanto está relacionado con los colores de tonalidad roja; el resultado del parámetro b^* indica un inclinación a los tonos amarillos al ser un valor positivo. Resultados similares fueron reportados por (**Prohens et al., 2013**), quienes obtuvieron valores de 23,8 para L^* , 5,0 para a^* y 2,1 para b^* .

Así mismo estos resultados fueron evaluados en el sitio web Encycolorpedia, que muestra esquemas de colores, combinaciones y conversiones de espacio de color (**“Esquemas de Color Hexagonal, Pesquisa de Pintura, Paletas de Colores y Conversiones,” n.d.**), cuyo resultado arrojó una composición de 27,84 % rojo, 23,14 % verde y 22,35 % de azul (Ver anexo 3).

Los índices físico-químicos permiten determinar el estado de madurez del fruto de una planta y evaluar su estado de desarrollo, con los resultados obtenidos se puede establecer el estado de madurez del vegetal, corresponde a un estado grado 3 (Ver anexo 4). Pasado este estado, en el de caso de la berenjena se vuelve espinosa y va deteriorando su apariencia y el color de su piel se torna amarillo o bronceado, otro indicador es la apariencia de sus semillas, que al estar en un grado de maduración 5 se tornan de coloración marrón (**Hatice Filiz BOYACI, Volkan TOPCU, 2015**). En Ecuador no existe una norma que rijan a este vegetal por lo tanto los datos reportados han sido tomados de diferentes recursos bibliográficos.

3.1.1.2 Caracterización química

3.1.1.2.1 Determinación del Potencial de Hidrógeno (pH)

El pH fue determinado mediante un pH-metro digital (ORION 420A), esta medida evalúa el nivel de acidez o alcalinidad en una escala de 0 a 14, el pH obtenido fue de 5,66 (Ver anexo 5) un valor <7 el cual señala que la muestra presenta carácter ácido, este resultado es similar al obtenido en el análisis de berenjena fresca en los estudios de **(Fernández E. Monserrat S. Sluka E., 2005)** de 5,5.

3.1.1.2.2 Determinación de Sólidos solubles (° Brix)

Para la determinación de °Brix se utilizó un refractómetro (ATAGO Pocket-Japón) que permite cuantificar la cantidad aproximada de azúcares en el alimento, el resultado promedio obtenido fue de 2,87 (Ver anexo 5); este valor se encuentra dentro del rango reportado por **(Hatice Filiz BOYACI, Volkan TOPCU, 2015)** que se encuentra entre un mínimo de 2,8 y máximo de 6,1.

3.1.2 Obtención del extracto vegetal líquido

Para la determinación de las condiciones óptimas del proceso de extracción de antocianinas a partir de cáscaras de Berenjena (*Solanum melongena*) se realizó el estudio de la influencia de dos factores: relación material vegetal/volumen de disolvente (factor A) y el tiempo de extracción (factor B), mediante un diseño experimental de superficie 2^2 .

Previamente, mediante espectrofotometría UV-Vis se cuantificó el contenido de antocianinas presentes en los extractos obtenidos (Ver anexo 6), según **(Hernández-Quintero et al., 2017)** existen diferentes metodologías para la determinación de antocianinas y la espectroscopía UV-Vis es el más utilizado, debido al corto tiempo de análisis y su costo comparado con otros.

El resultado del análisis de varianza (Ver anexo 7) señala que el factor A, tiene influencia significativa en el proceso de extracción de antocianinas, con un valor de ($p < 0,05$) para un 95 % de confianza, mientras que el factor B con un valor de ($p > 0,05$) no influye en la respuesta experimental. Esta proporción de material vegetal/volumen de disolvente (1 parte masa vegetal/25 partes de etanol acidificado) fue la ideal para alcanzar un equilibrio en donde el soluto se disuelve de forma total y no se obtienen extractos o muy diluidos o con bajas difusiones. Es importante tomar en cuenta la naturaleza del disolvente debido a que las antocianinas son compuestos de polaridad intermedia. Según (Cosavalente Burgos, Ruiz Reyez, & Ganoza Yupanqui, 2017) este tipo de metabolitos se pueden extraer de forma eficiente con solventes como el etanol de alta graduación, en este caso se utilizó etanol al 96 %, además que el proceso puede ser optimizado con la acidificación del medio, con un ácido mineral u orgánico, para esta extracción se utilizó HCl como acidificante. (Water et al., 2001) menciona que solventes ácidos desnaturalizan las membranas de tejido celular y disuelven simultáneamente los pigmentos, además de estabilizar las antocianinas.

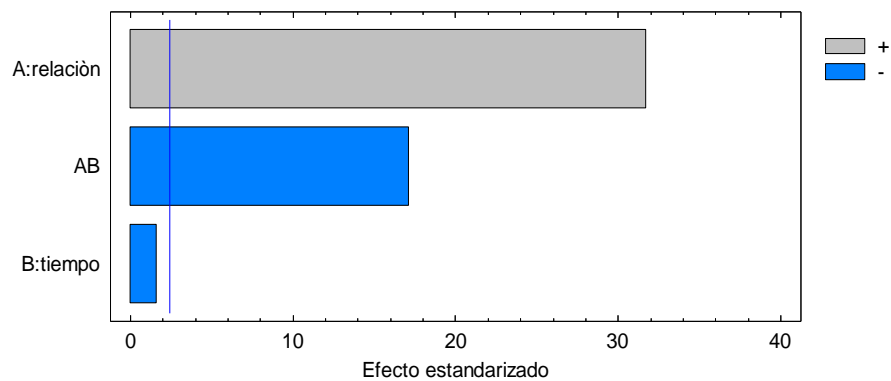


Figura 2. Diagrama de Pareto estandarizado de los factores que influyen en proceso de extracción de antocianinas.

El diagrama de Pareto que se observa en la Figura 2, representa la interacción de los dos factores de estudio (A y B) en el proceso de extracción, se puede observar que el factor A sobrepasa el efecto estandarizado, confirmando que la relación material vegetal/ volumen del disolvente influye significativamente en el proceso a diferencia del factor B, que no tiene una influencia significativa, se obtuvo además un modelo con un ajuste de $r^2 = 99,54 \%$.

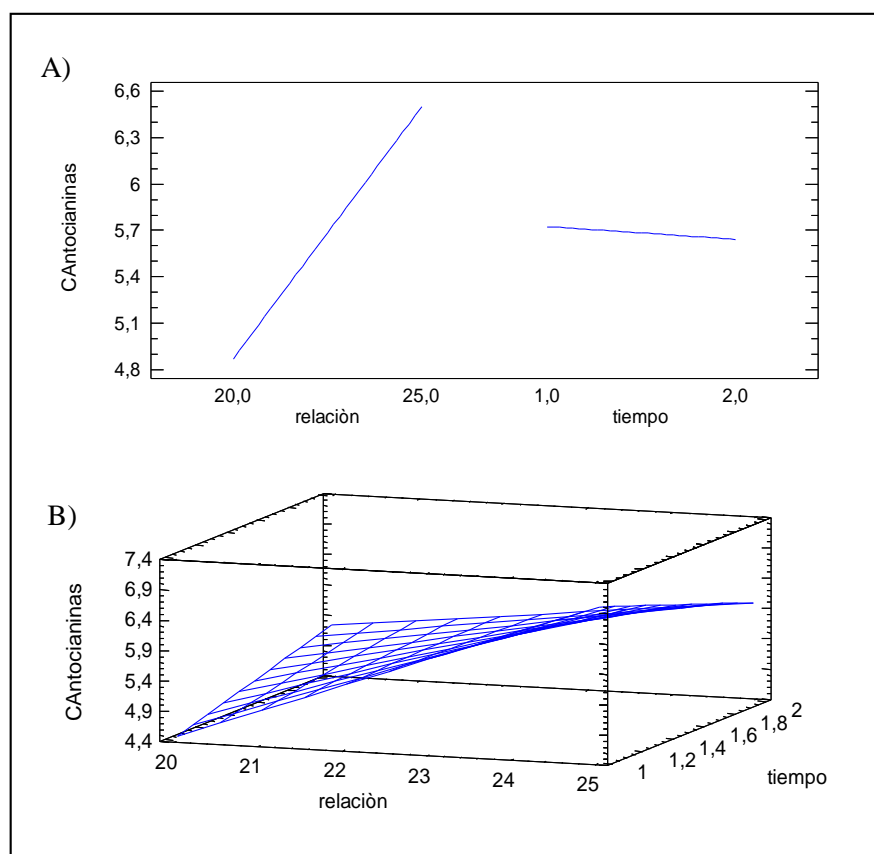


Figura 3. A) Gráfico de efectos principales; B) Superficie de respuesta estimada para la concentración de antocianinas (mg/100g).

En la Figura 3A, se observa que se alcanza una mayor concentración de antocianinas en una relación 1:25 y un tiempo de extracción de 1 hora a una temperatura de 70 °C, este resultado es contrastado por el gráfico de superficie de respuesta que según **(Gunaraj & Murugan, 1999)** un gráfico de este tipo representa los efectos directos e interactivos de las variables del proceso a través de gráficos bidimensionales y tridimensionales, en este caso en la Figura 3B se observa en forma tridimensional la interacción entre el factor A y el factor B, afirmando que la concentración más alta en la extracción de antocianinas se obtiene con una relación 1:25 (material vegetal/volumen del disolvente) durante el tiempo de 1 hora de ebullición, alcanzando una concentración máxima de 7,0 mg/100 g. Este resultado puede ser comparado por el obtenido por **(Todaro et al., 2009)** al realizar una extracción con etanol acidificado obtuvo una concentración de extractos antociánicos mínima de 2,23 y máxima de 14,52 (mg/100 g), siendo más eficiente que al utilizar soluciones de ácido málico o tartárico. Un parámetro a considerar es la temperatura, estudios afirman que las antocianinas pierden su estabilidad y pueden ser degradadas por el calor y largos

tiempos de extracción, por lo que (Vásquez, 2016) recomienda realizar una extracción a temperaturas comprendidas entre 60 y 90 °C.

3.1.3 Microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión

Mediante la técnica de microencapsulación por Spray drying se obtuvo como resultado un fino polvo constituido por partículas en forma de microesferas. Esta técnica atrapa materiales activos en este caso las antocianinas, dentro de una matriz polimérica protectora, mejorando así su estabilidad (Shahidi & Han, 2015). La elección de la matriz polimérica es muy importante ya que influye directamente en la eficiencia del proceso. Para la microencapsulación se utilizó una relación 20:80 entre el extracto concentrado y las matrices poliméricas, este proceso se permite la utilización de matrices de tipo homogéneo o heterogéneo (Gharsallaoui & Chambin, 2007) en este caso se utilizó como matriz homogénea a la maltodextrina mientras que como matriz heterogénea una mezcla 50:50 de maltodextrina y goma arábiga, para comparar su eficiencia. La maltodextrina es una de las sustancias más utilizadas debido a sus propiedades físicas, entre ellas se destaca su alta solubilidad en agua, mientras que la goma arábiga además de su alta solubilidad en agua, según (Rigon & Zapata Noreña, 2016) es un polímero que posee un alto contenido de fibra soluble, baja viscosidad y bajo valor calórico.

Otro factor a tomar en cuenta son los parámetros de funcionamiento del equipo, se utilizó una temperatura de entrada de 150 °C, ya que (Gharsallaoui & Chambin, 2007) menciona que una temperatura de entrada del aire caliente varía entre 150 y 220 °C, lo que permite la evaporación instantánea del líquido. Se utilizó una temperatura de salida de 90 °C, (Mahdavi et al., 2014) mencionan que una temperatura de salida óptima está en un intervalo de 80 a 90 °C para el caso de las antocianinas. Según (López Hernández & Gómez Carril, 2008) una de las ventajas del secado por aspersión además de su facilidad, es que se adapta a materiales sensibles al calor, debido a que el tiempo utilizado para la atomización de la muestra es relativamente corto (5 – 30 s), por lo que es efectivo para microencapsular antocianinas utilizando cualquier matriz encapsulante.

Para realizar el análisis de varianza se determinaron previamente los porcentajes de eficiencia de la microencapsulación con la ecuación 4 (Ver anexo 8).

En los resultados obtenidos del análisis de varianza para la comparación de la eficiencia de microencapsulación con los polímeros de maltodextrina y la mezcla (maltodextrina-goma arábica), con 95 % de confianza se obtuvo un valor de ($p < 0,05$), es decir que existe diferencia significativa entre grupos (Ver anexo 9).

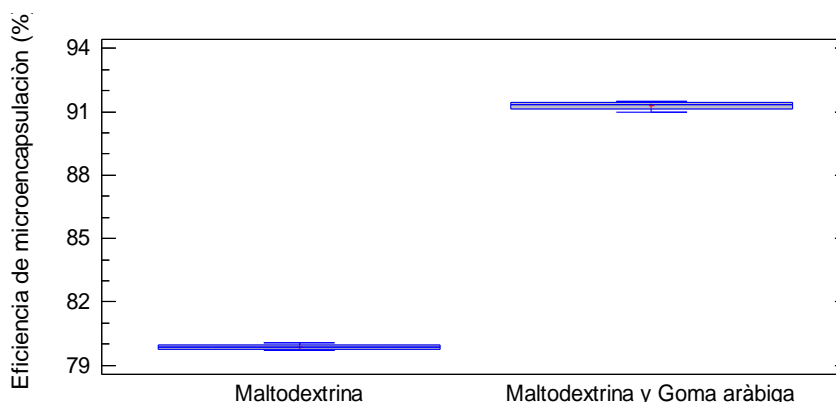


Figura 4. Comparación de % de eficiencia de microencapsulación con maltodextrina y mezcla (maltodextrina-goma arábica).

En la Figura 4 se puede observar el resultado de la prueba de múltiples rangos de Duncan con la que se obtiene una eficiencia media con porcentaje de 79,85 % para el microencapsulado con maltodextrina, resultados similares obtuvieron (**Chatterjee & Bhattacharjee, 2015**) en donde la eficiencia de microencapsulación llegó a valores de 73 %. Este resultado puede atribuirse a un aumento en la viscosidad de la dispersión con maltodextrina durante la alimentación de la misma, haciendo que los sólidos se adhieran a la pared de la cámara secado y el ciclón, afectando directamente al rendimiento del proceso (**Arrazola, Herazo, & Alvis, 2014**).

La eficiencia de la mezcla fue de 91,28 %, siendo significativamente superior, autores como (**Krishnan, Bhosale, & Singhal, 2005**) reportan que la mezcla de goma arábica y maltodextrina fue efectiva en la microencapsulación de aceite de cardamomo usando un secado por atomización. Valores similares fueron reportados por (**López, Márquez, Mayo, Toledo, & Pérez, 2009**) con un porcentaje de 90 % para la mezcla maltodextrina-goma arábica.

3.1.4 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR

En la Figura 5 se observa el resultado del análisis de espectrofotometría infrarroja de las antocianinas extraídas antes y después de su microencapsulación.

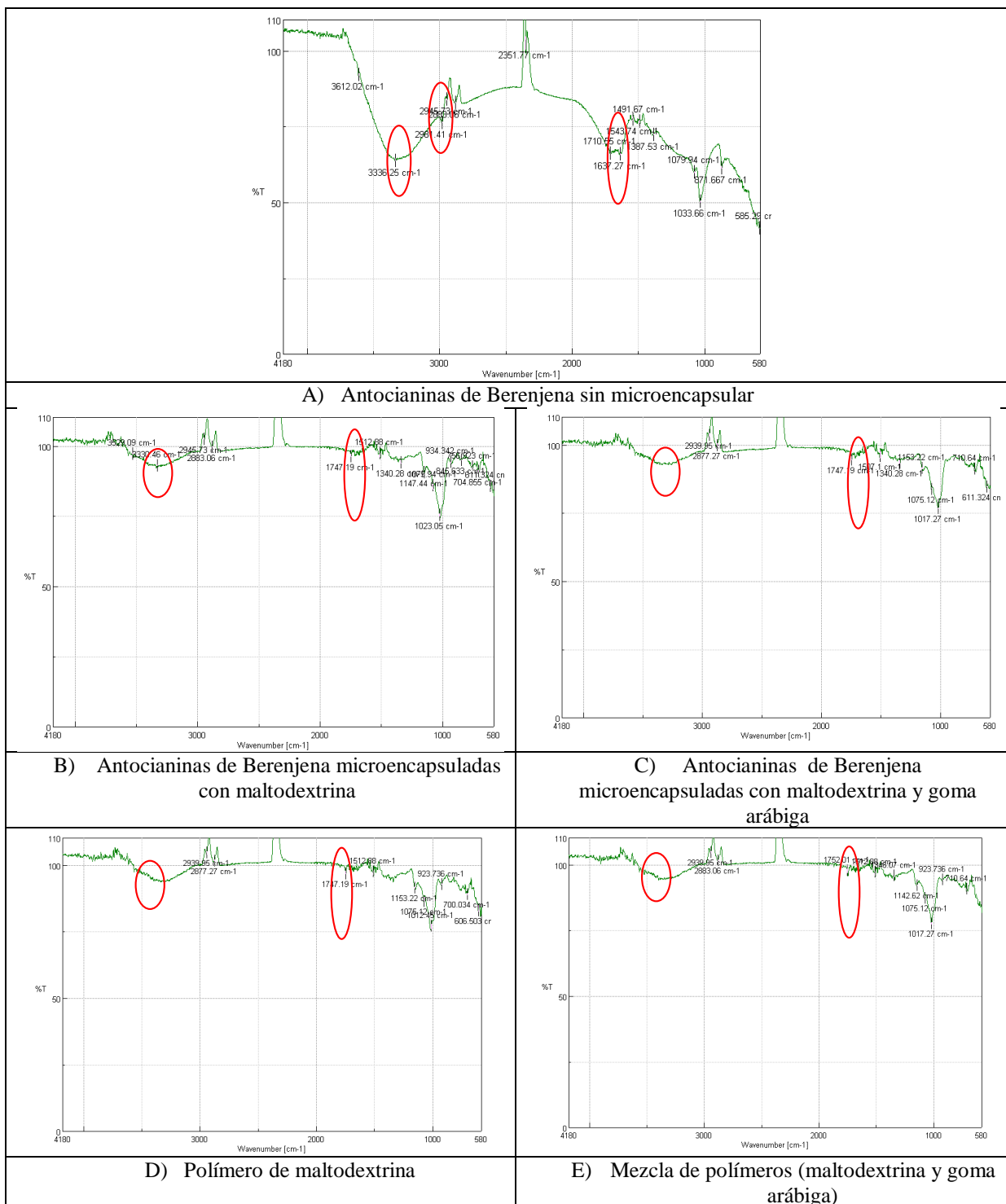


Figura 5. Espectrofotometría Infrarroja FT-IR realizada a las muestras sin microencapsular, microencapsuladas y de las matrices poliméricas.

Los espectros fueron realizados en el rango entre 4180 cm^{-1} y 580 cm^{-1} . En la Figura 5A se observa el espectro obtenido de las antocianinas sin agente microencapsulante, las bandas más representativas son las correspondientes a $3336,25\text{ cm}^{-1}$ (OH inter o

intramolecular), $1637,27\text{ cm}^{-1}$ (enlaces C=C del anillo bencénico), $1710,55\text{ cm}^{-1}$ (grupo carbonilo) y $2945,73\text{ cm}^{-1}$ (hidrógeno alifático), según **(Hussain & Mahmoud, 2011)** estos valores son similares a la estructura que representa a un flavonoide específicamente del tipo antocianina. Resultados similares fueron reportados por **(Ahmed, 2015)**, quien obtuvo espectros FT-IR de pigmentos de antocianinas extraídos de cereza con valores de $1633,71$; $1722,73$; $2933,73$ y $3423,65\text{ cm}^{-1}$. En las Figuras 5B y 5C se puede observar que los picos obtenidos en el extracto concentrado disminuyen su intensidad, esto se debe al enmascaramiento del compuesto bioactivo, resultado de la microencapsulación mediante las matrices poliméricas. Esto puede ser corroborado con la Figura 5D y 5E, que son el resultado de los espectros obtenidos de las matrices poliméricas sin ningún tratamiento. Por tanto se demuestra que el compuesto bioactivo está microencapsulado en las dos matrices poliméricas.

3.1.5 Determinación del potencial antioxidante

3.1.5.1 Determinación del potencial antioxidante *in vitro*

En los últimos años ha existido un mayor interés en la aplicación de compuestos antioxidantes naturales a tratamientos médicos, ya que enfermedades humanas han sido asociadas al estrés oxidativo **(Vaya & Aviram, 2005)**.

Para la determinación del potencial antioxidante se utilizó el ensayo de DPPH, que mide la capacidad de eliminación de radicales libres de un compuesto.

Los resultados de análisis de varianza de este ensayo (Ver anexo 10), con un 95 % de confianza para la determinación del potencial antioxidante *in vitro* por el método de DPPH, arroja un valor de ($p < 0,05$), es decir que existe diferencia significativa entre los polímeros analizados. Encontrando que la mezcla de polímeros presenta un porcentaje de inhibición más alto en comparación con la maltodextrina. Según **(Barragán, 2018)**, la molécula de DPPH al tener un electrón desapareado, su color característico será violeta intenso, y al reaccionar con un compuesto antioxidante esta tonalidad decaerá, como se pudo evidenciar en las muestras realizadas, este cambio puede ser cuantificado como capacidad antioxidante en una medida de absorbancia a 515 nm.

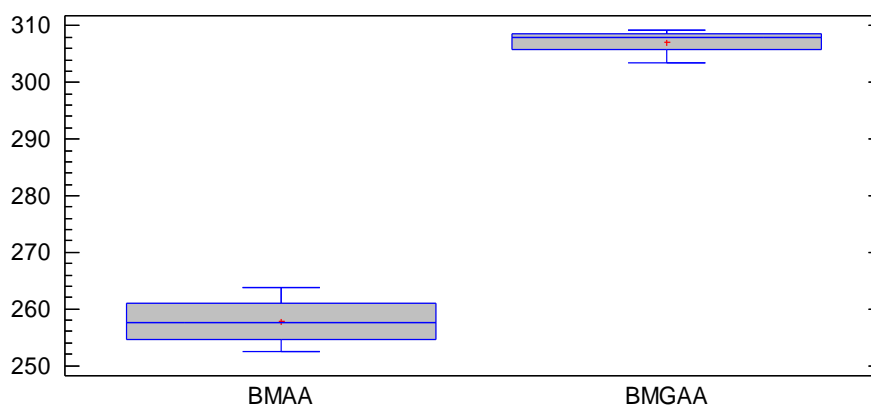


Figura 6. Diagrama de cajas y bigotes: comparación de la actividad antioxidante *in vitro* de los microencapsulados.

Leyenda:

BMAA: Actividad antioxidante del microencapsulado con maltodextrina

BMGAA: Actividad antioxidante del microencapsulado con la mezcla (maltodextrina-goma arábica)

En la Figura 6 se observa el resultado de la prueba de múltiples rangos de Duncan que indica una diferencia significativa en la actividad antioxidante *in vitro* entre los polímeros analizados, evidenciando que la mezcla (maltodextrina-goma arábica) ofrece una mayor actividad antioxidante a diferencia del polímero de maltodextrina. Utilizando la ecuación 5, se calculó el porcentaje de inhibición para cada muestra, estos valores fueron graficados frente a las $\mu\text{mol Trolox}$ y una vez obtenida la ecuación de la regresión lineal (Ver anexo 11), se obtuvieron los valores con una media de 257,88 y 307,19 $\mu\text{mol Trolox}$, para el caso de la maltodextrina y la mezcla respectivamente, señalando una mayor actividad antioxidante para el caso de la mezcla. Estos resultados pueden ser comparados con los obtenidos por (Arrazola et al., 2014), quienes obtuvieron valores de 252,8 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de extracto seco para el caso de la maltodextrina. Para el caso de la mezcla, (Arteaga & Arteaga, 2016) menciona que la goma arábica en combinación con agentes como la maltodextrina o almidón dan mejores resultados en eficiencia y a la vez mejoran la estabilidad de los compuestos en la microencapsulación. Debido a que en su estructura posee una pequeña fracción proteica, hace que mejore la permeabilidad celular haciendo que sea más soluble, por lo que se evidencia una mejor actividad antioxidante para este caso.

Según (Stommel & Whitaker, 2003) las verduras tienen una calidad antioxidante comparable a la de fenoles puros e incluso superior a la de vitaminas antioxidantes como la vitamina A, C y E.

3.1.5.2 Determinación del potencial antioxidante *in vivo* utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo

La evaluación del potencial antioxidante *in vivo* de los microencapsulados se llevó a cabo utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, ya que (Karathia, Vilaprinyo, Sorribas, & Alves, 2011) mencionan que esta levadura es uno de los organismos modelo eucarióticos más utilizado debido al conocimiento de sus procesos biológicos.

La vitamina C fue utilizada como control positivo, (Arrigoni, O., & De Tullio, 2017) menciona que es un antioxidante que elimina de forma eficaz los radicales libres tóxicos del metabolismo celular, mientras que el peróxido de hidrógeno se utilizó como agente causante del estrés oxidativo, ya que (Alam, Bristi, & Rafiquzzaman, 2013) menciona que cuando este compuesto entra en contacto con el organismo, se descompone de forma inmediata en oxígeno y agua, produciendo radicales hidroxilo que pueden iniciar la peroxidación lipídica y causar daños en su material genético.

Estudios realizados por (Wu et al., 2011), afirman que la detención del crecimiento, es un indicativo por el cual la levadura se adapta al estrés oxidativo y un crecimiento por encima de este, indica una actividad antioxidante positiva del compuesto utilizado. Este crecimiento fue cuantificado mediante la turbidez de las muestras con una lectura de absorbancias, (Hernández & González, 2013) mencionan que la turbidez es utilizada para evaluar el crecimiento de microorganismos desarrollados en el cultivo analizado. Las absorbancias máximas obtenidas con una concentración baja y alta de antioxidantes expuesta a un estrés oxidante de 0,5 mmol/l, no se consideraron debido a que no encontraron variaciones significativas entre los controles positivos y las muestras (Ver anexo 12).

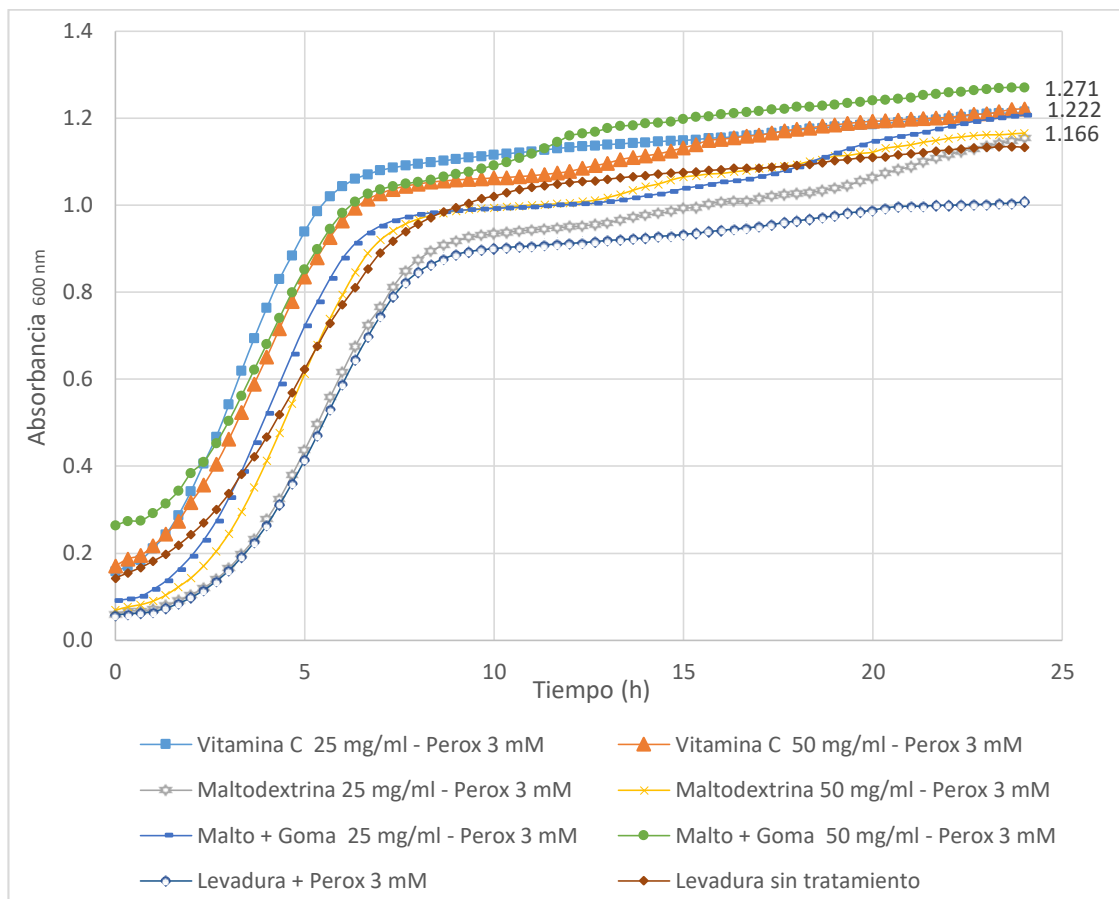


Figura 7. Curvas de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* para la evaluación de la actividad antioxidante *in vivo*.

En la Figura 7 se observa el crecimiento de la levadura durante un periodo de 24 horas, para el caso de la levadura sin ningún tipo de tratamiento oxidante ni antioxidante, se aprecia un crecimiento normal del microorganismo, desde su fase de adaptación hasta su estado estacionario, llegando a un punto máximo de absorbancia de 1,133. A diferencia de este resultado, cuando se somete al microorganismo al estrés oxidativo provocado por el peróxido su crecimiento fue limitado, sin embargo a pesar de no existir un agente antioxidante logra tener un punto máximo de absorbancia de 1,008; este resultado puede atribuirse a lo mencionado por (Bayliak, Semchyshyn, & Lushchak, 2006), quienes señalan que *S. cerevisiae* posee mecanismos de defensa celular contra el peróxido de hidrógeno, entre estas se menciona a las catalasas citosólicas, superóxido dismutasas y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

Por otra parte al aplicar los tratamientos antioxidantes de vitamina C y microencapsulados a diferentes concentraciones se obtuvieron valores máximos de

absorbancia similares, comparando los valores de los dos microencapsulados, los valores de absorbancia obtenidos con el microencapsulado correspondiente a la mezcla fue mayor que el de la maltodextrina, tanto a una concentración de 25 mg/ml como a la concentración de 50 mg/ml, obteniendo valores máximos de 1,154, 1,166, 1,207 y 1,271. Los valores obtenidos en los puntos máximos de absorbancia de la vitamina C a concentración 25 mg/ml y 50 mg/ml fueron de 1,215 y 1,222 respectivamente, que comparados con el resultado máximo de la mezcla, resultan inferiores.

Estos resultados demuestran que los microencapsulados tienen la capacidad de promover la protección al microorganismo contra el estrés oxidativo del peróxido, según **(Reyes, Guillermo, Edmundo, & Lissette, 2014)** los flavonoides funcionan como antioxidantes naturales neutralizando especies químicas reactivas que producen daños oxidativos sobre las células, mismos que provocan su degeneración, envejecimiento y pérdida de su función, es por eso que las propiedades de estos compuestos contribuyen a la prevención de varios procesos fisiopatológicos que además podrían utilizarse como una terapia alternativa a la medicina tradicional.

3.1.6. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

El método de estabilización de membrana de eritrocitos ha sido utilizado como una metodología que estudia la actividad antiinflamatoria *in vitro* de un compuesto **(G & S, 2011)**. Según **(Oyedapo, Akinpelu, Akinwunmi, Adeyinka, & Sipeolu, 2010)**, la membrana eritrocitaria es semejante a la membrana lisosomal por lo que el efecto farmacológico o de extractos sobre la estabilización de membranas de eritrocitos puede también estabilizar la membrana lisosomal.

El resultado del análisis de varianza (Ver anexo 13) con un 95 % de confianza y un valor de ($p < 0,05$) determina que existe diferencia significativa entre grupos en la evaluación del potencial antiinflamatorio de las muestras analizadas mediante el método de estabilización de membrana de eritrocitos.

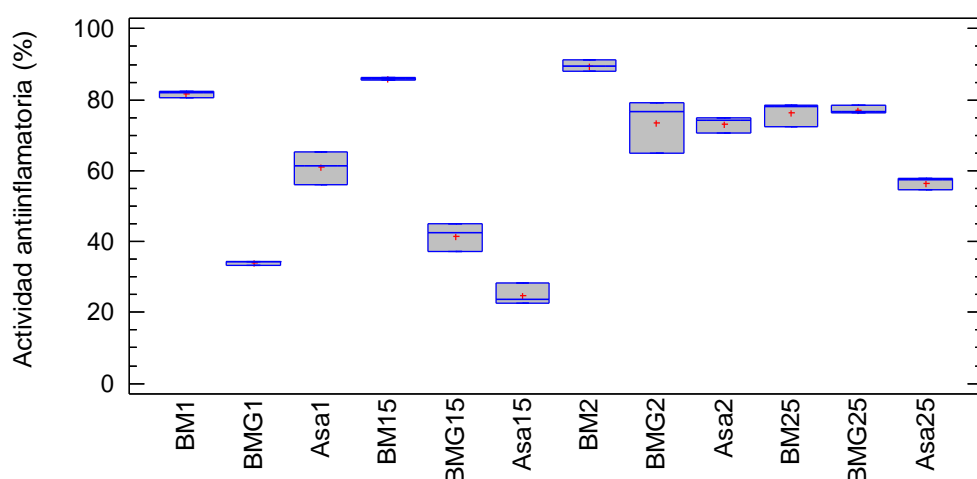


Figura 8. Comparación del porcentaje de actividad inflamatoria de los microencapsulados con el antiinflamatorio control.

Leyenda:

BM1: maltodextrina (1 mg/ml), **BMG1:** mezcla (1 mg/ml), **Asa1:** Aspirina (1 mg/ml)

BM15: maltodextrina (1,5 mg/ml), **BMG15:** mezcla (1,5 mg/ml), **Asa15:** Aspirina (1,5 mg/ml)

BM2: maltodextrina (2 mg/ml), **BMG2:** mezcla (2 mg/ml), **Asa2:** Aspirina (2 mg/ml)

BM25: maltodextrina (2,5 mg/ml), **BMG25:** mezcla (2,5 mg/ml), **Asa25:** Aspirina (2,5 mg/ml)

En la Figura 8 se presenta el diagrama de cajas y bigotes, de los resultados obtenidos de la comparación del porcentaje de actividad antiinflamatoria de los microencapsulados y el antiinflamatorio control de uso comercial (aspirina). La muestra de microencapsulado con maltodextrina a una concentración de 2 mg/ml, presentó un valor de 89,61 % de actividad antiinflamatoria, siendo el mayor porcentaje en comparación con las otras muestras, así mismo al ser comparado con la muestra testigo de aspirina a la misma concentración, el valor fue relativamente mayor, ya que la del testigo fue de 73,27 %, esto puede atribuirse a que el principio activo solo esta enmascarado por la maltodextrina, haciendo que se solubilice de mejor manera a diferencia de la mezcla. Se puede observar que existe un crecimiento progresivo del porcentaje de actividad antiinflamatoria al llegar hasta llegar a una concentración de 2 mg/ml para el caso de maltodextrina, en el caso del microencapsulado con la mezcla se observa que a pesar de tener valores inferiores al microencapsulado de maltodextrina, tiene un incremento progresivo de actividad partiendo desde 34,05 % a una concentración de 1 mg/ml, hasta un porcentaje de 77,17 % a una concentración de 2,5 mg/ml. Estos resultados demuestran que los microencapsulados tanto de maltodextrina como la mezcla poseen una potente actividad antiinflamatoria. Según (Parvin et al., 2015), se han observado efectos antinflamatorios en compuestos como

flavonoides y taninos, inclusive son efectivos para la reducción de inflamaciones de tipo agudo, así mismo **(Oyedapo et al., 2010)**, menciona los flavonoides ejercen un efecto eficaz en la estabilización de membranas lisosómicas tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, por lo tanto este tipo de compuestos pueden considerarse como una fuente natural de estabilizadores de membrana y utilizarse como tratamientos alternativos para el manejo de enfermedades antiinflamatorias.

3.1.7 Verificación de la Hipótesis

Mediante el respectivo análisis de los datos obtenidos en los distintos ensayos *in vitro* e *in vivo*.

$H_0 \neq 0$ Se rechaza la hipótesis nula.

$H_1=0$ Se acepta la hipótesis alternativa, ya que los extractos microencapsulados presentaron potencial como agentes antioxidantes y antiinflamatorios.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Se determinaron las características físico-químicas de la berenjena (*Solanum melongena*), dentro de las características físicas se obtuvo un valor de 15,34 cm de longitud, 7,58 cm de diámetro, un peso de 213,26 g, un volumen y densidad de 40,7 ml y 5,3 g/ml respectivamente, mientras que para las características químicas se obtuvo un pH ácido de 5,66 y 2,87 °Brix.
- Se estableció que las condiciones óptimas para proceso de extracción de antocianinas a partir de cáscara de berenjena (*Solanum melongena*) son una relación material vegetal/ volumen de disolvente 1:25, con un tiempo de extracción de 60 minutos a una temperatura constante de 70 °C, utilizando como disolvente etanol al 96 % acidificado con HCl en relación 85:15.
- Se microencapsularon los extractos concentrados utilizando dos matrices poliméricas, maltodextrina y mezcla (maltodextrina-goma arábica 50:50), obteniendo un porcentaje de eficiencia de microencapsulación superior de 91,28 %, para la mezcla, mientras que en el caso de la maltodextrina se obtuvo un porcentaje de 79,85 %, al realizar en análisis de espectrofotometría infrarroja FT-IR se confirmó el enmascaramiento de los componentes bioactivos por parte de los polímeros.
- Se determinó la actividad antioxidante de los productos microencapsulados *in vitro* mediante el ensayo de DPPH obteniendo valores de 257,88 y 307,19 μmol equivalentes de Trolox/g de microencapsulado, para el caso de la maltodextrina y la mezcla respectivamente. Mientras que en el ensayo *in vivo* con *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvieron curvas de crecimiento que demostraron el efecto antioxidante proporcionado por los microencapsulados, que comparados con la acción de la vitamina C, lograron valores máximos de

absorbancia similares e incluso siendo ligeramente mayor en el caso de la mezcla de polímeros demostrando así su efecto antioxidante.

- Se evaluó el potencial antiinflamatorio de los microencapsulados de maltodextrina y mezcla (maltodextrina-goma arábica) mediante el método de estabilización de membrana de eritrocitos, en el caso del microencapsulado de maltodextrina a concentración 2 mg/ml, así como para la mezcla a una concentración de 2,5 mg/ml mostraron una actividad de 89,61 % y 77,17 % de actividad antiinflamatoria respectivamente, que comparada con la actividad de 73,27 % del fármaco control (aspirina) poseen un desempeño similar.

4.2 RECOMENDACIONES

- Estudiar la extracción de los metabolitos utilizando otros disolventes como metanol o acetona.
- Microencapsular las antocianinas extraídas utilizando otros polímeros como gelatina y suero de leche para comparar su eficiencia.
- Utilizar cepas de *S. cerevisiae* certificadas para obtener mejores resultados en la curva de crecimiento.
- Utilizar otros agentes oxidantes y antiinflamatorios para las pruebas de actividad antioxidante y antiinflamatoria.
- Realizar una caracterización física en cuanto a morfología y aspecto de la superficie por microscopía de barrido electrónico de las microesferas obtenidas en el proceso de microencapsulación.

MATERIAL DE REFERENCIA

5.1 Referencias Bibliográficas

- Abdel-Aal, E. S. M., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76(3), 350–354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Ahmed, J. K. (2015). Effect of Chlorophyll and Anthocyanin on the Secondary Bonds of Poly Vinyl Chloride (PVC). *International Journal of Materials Science and Applications*, 4(2), 21. <https://doi.org/10.11648/j.ijmsa.s.2015040201.15>
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). Microencapsulación de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. *Informacion Tecnologica*, 25(3), 31–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Arrigoni, O., & De Tullio, M. C. (2017). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant, 1(2), 9. <https://doi.org/10.1007/s11051-017-3874-y>
- Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in powder of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 191–200. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05>
- Barragán, M. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (*Coriaria ruscifolia* L), 20(4), 419–428. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.419>
- Bayliak, M., Semchyshyn, H., & Lushchak, V. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antioxidant enzyme activities in *Saccharomyces cerevisiae* is strain-specific. *Biochemistry (Moscow)*, 71(9), 1013–1020. <https://doi.org/10.1134/S0006297906090100>

- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221–247. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>
- Chatterjee, D., & Bhattacharjee, P. (2015). Encapsulation of colour from peels of eggplant in calcium alginate matrix. *Nutrafoods*, 14(2), 87–96. <https://doi.org/10.1007/s13749-015-0001-5>
- Chem, F. (2008). Regulation of Adipocyte Function by Anthocyanins ;, 642–646.
- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary.pdf, 1072(October 1999), 1063–1072.
- Cosavalente Burgos, K. S., Ruiz Reyez, S. G., & Ganoza Yupanqui, M. L. (2017). Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* “Arándano.” *Ucv-Scientia*, 8(1), 44–48. <https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v8n1a5>
- Cuba. Comisión Nacional Asesora en Investigaciones de Plantas Medicinales., J. A., Montes de Oca-Rojas, Y., & Domínguez-Mesa, M. I. (1996). *Revista cubana de plantas medicinales. Revista Cubana de Plantas Medicinales* (Vol. 12). Editorial Ciencias Médicas. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962007000300006
- Esquemas de Color Hexagonal, Pesquisa de Pintura, Paletas de Cores y Conversiones. (n.d.). Retrieved September 5, 2019, from <https://encycolorpedia.es/>
- Fernández E. Monserrat S. Sluka E. (2005). Tecnologías De Conservación Por Métodos Combinados En Pimiento , Chaucha Y Berenjena Conservation

Technologies Applying Combined Methods in Pepper , Bean and Eggplant. *FCA UNCuyo. Tomo XXXVII. N° 2.*, 73–82.

- Figuroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M., & Ceballos Ortiz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído con CO₂ supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, 45(2), 39. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481>
- Fornaris, G. J. (2006). *Conjunto tecnológico para la producción de*. Río Piedras, Puerto Rico.
- G, L., & S, M. D. (2011). Invitro Anti-Inflammatory Activity of Methanol Extract of *Enicostemma Axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(3), 189–196.
- Gharsallaoui, A., & Chambin, O. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients : An overview, 40, 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Giusti, M. M., Rodríguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (1999). Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non- acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4631–4637. <https://doi.org/10.1021/jf981271k>
- Gunaraj, V., & Murugan, N. (1999). Application of response surface methodology for predicting weld bead quality in submerged arc welding of pipes. *Journal of Materials Processing Technology*, 88(1), 266–275. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(98\)00405-1](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(98)00405-1)
- Hatice Filiz BOYACI, Volkan TOPCU, A. T. (2015). Morphological and Molecular Characterization and Relationships of Turkish Local Eggplant Heirlooms. Retrieved September 5, 2019, from http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=15&ds=799
- Hernández-Quintero, J. de D., Rosales-Nolasco, A., Molina-Macedo, A., Miranda-Piliado, A., Willcox, M., Palacios-Rojas, N., & Hernández-Casillas, J. M. (2017). Quantification of anthocyanins through near infrared spectroscopy and liquid

chromatography in pigmented maize. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(2), 219–226.

Hernández, D., & González, A. (2013). Turbimetria.

Hussain, M. a., & Mahmoud, K. M. (2011). Isolation and Identification of an Anthocyanin Compound from Cherry Fruit (*Prunus Avium L.*) and Study of its Antibacterial Activity. *Tikrit Journal of Pure Science*, 16(2), 2–6.

INEN-ISO 1842. (2013). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN-ISO 1842:2013. *PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE PH (IDT).*, 1991, 2013.

INEN-ISO 2173. (2013). NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN-ISO 2173:2013. *PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES – MÉTODO REFRACTOMÉTRICO (IDT)*, 2003.

Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A., & Alves, R. (2011). *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: A comparative study. *PLoS ONE*, 6(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016015>

Kechinski, C. P., Guimarães, P. V. R., Noreña, C. P. Z., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2010). Degradation Kinetics of Anthocyanin in Blueberry Juice during Thermal Treatment. *Journal of Food Science*, 75(2), 173–176. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01479.x>

Kes, P., & Bašić-Jukić, N. (2009). Lijekovi koji stimuliraju eritropoezu: Prošlost, sadašnjost i budućnost. *Acta Medica Croatica*, 63(SUPPL. 1), 3–6. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9)

Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.02.020>

La, E., La, P. D. E., & Técnica, U. (2015). Universidad técnica de cotopaxi.

Linnaeus, C. von. (1753). Tropicos | Name - *Solanum melongena* L. Retrieved November 6, 2019, from <http://www.tropicos.org/Name/29600121>

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- López Hernández, O. D., & Gómez Carril, M. (2008). Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*, 42(3), 0–0. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152008000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- López, O., Márquez, T., Mayo, O., Toledo, C., & Pérez, E. (2009). Características del Aceite de Semillas de Cucurbita pepo L. Microencapsulado mediante Secado por Aspersión con Maltodextrina y Goma Arábiga. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(4), 629.
- Magioli, C., & Mansur, E. (2006). Eggplant (*Solanum melongena* L.): tissue culture, genetic transformation and use as an alternative model plant. *Acta Botanica Brasílica*, 19(1), 139–148. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062005000100013>
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., & Ghorbani, M. (2014). Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers : A Review, 509–518. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.839562>
- Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2), 39–48. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n2-07>
- Noor, A. I., Mokhtar, M. H., Rafiqul, Z. K., & Pramod, K. M. (2012). Understanding Color Models : A Review. *ARPN Journal of Science and Technology*, 2(3), 265–275.
- Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., & Sipeolu, F. O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46–51.
- Ozela, E. F., Stringheta, P. C., & Chauca, M. C. (2007). Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits, 34(2), 115–120.

- Parvin, M. S., Das, N., Jahan, N., Akhter, M. A., Nahar, L., & Islam, M. E. (2015). Evaluation of in vitro anti-inflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* leaves and stem bark Pharmacology and Toxicology. *BMC Research Notes*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1384-5>
- Plata, A., Ramírez, S., & Riaño Luna, C. E. (2017). Método de superficie de respuesta para optimizar las condiciones de producción de ácido láctico a partir de subproductos lácteos: SLC. *Nova*, 10(18), 157. <https://doi.org/10.22490/24629448.1004>
- Prohens, J., Whitaker, B. D., Plazas, M., Vilanova, S., Hurtado, M., Blasco, M., ... Stommel, J. R. (2013). Genetic diversity in morphological characters and phenolic acids content resulting from an interspecific cross between eggplant, *Solanum melongena*, and its wild ancestor (*S. incanum*). *Annals of Applied Biology*, 162(2), 242–257. <https://doi.org/10.1111/aab.12017>
- Rashid, M. A. (2011). MEMBRANE STABILIZING ACTIVITY - A POSSIBLE MECHANISM OF ACTION FOR THE ANTI- INFLAMMATORY ACTIVITY OF TWO BANGLADESHI MEDICINAL PLANTS: MESUA NAGASSARIUM (BURM . F .) AND KIGELIA PINNATA (JACK) DC ., 3(0974), 1–5.
- Rein, M. (2005). <*copigmentation reaction and color stability of berry anthos (Rein 2005).pdf*>.
- Reyes, R., Guillermo, S., Edmundo, V. C., & Lissette, H. A. (2014). CAPACIDAD ANTIOXIDANTE in vitro DE LOS FLAVONOIDES TOTALES OBTENIDOS DE LAS HOJAS DE *Sambucus peruviana* H.B.K. (SAUCO) PROVENIENTE DE LA CIUDAD DE HUAMACHUCO. *Pharmaciencia*, 1(2), 57–64.
- Rigon, R. T., & Zapata Noreña, C. P. (2016). Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry (*rubus fruticosus*). *Journal of Food Science and Technology*, 53(3), 1515–1524. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2111-x>
- Ruiz, M. Á. D. (2017). Control de calidad de hortalizas. Tomate, pimiento & berenjena. Retrieved from

https://issuu.com/horticulturaposcosecha/docs/info_tomate__pimiento_y_berenjena_2

- Sadilova, E., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Anthocyanins, colour and antioxidant properties of eggplant (*Solanum melongena* L.) and violet pepper (*Capsicum annuum* L.) peel extracts. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 61(7–8), 527–535. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989312>
- Saézn, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>
- Saez, V., Hernández, J., & Peniche, C. (2007). Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas, (18406), 1–4. Retrieved from <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/BiotecnolApl/2007/24/2/BA002402RV098-107.pdf>
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (2015). Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501–547. <https://doi.org/10.1080/10408399309527645>
- Stommel, J. R., & Whitaker, B. D. (2003). *Phenolic Acid Content and Composition of Eggplant Fruit in a Germplasm Core Subset. J. AMER. SOC. HORT. SCI* (Vol. 128). Retrieved from <https://naldc.nal.usda.gov/download/61516/PDF>
- Todaro, A., Cimino, F., Rapisarda, P., Catalano, A. E., Barbagallo, R. N., & Spagna, G. (2009). Recovery of anthocyanins from eggplant peel. *Food Chemistry*, 114(2), 434–439. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.102>
- Vareed, S. K., Reddy, M. K., Schutzki, R. E., & Nair, M. G. (2006). Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits, 78, 777–784. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.094>
- Vásquez, F. de M. (2016). Condiciones óptimas de extracción de antocianinas de la cáscara de la granada (*Punica granatum* L.) variedad Wonderful., 45. Retrieved from http://repositorio.ulcb.edu.pe/bitstream/handle/ULCB/29/INFORME_FINAL_2015-F_VASQUEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Vaya, J., & Aviram, M. (2005). Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry- Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1(1), 99–117. <https://doi.org/10.2174/1568013013359168>
- Wang, H., Cao, G., & Prior, R. L. (1997). Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins, 8561(96), 304–309. <https://doi.org/10.1021/jf960421t>
- Water, A., Proteins, B., Enzymes, C., Lipids, D., Carbohydrates, E., Pigments, F., ... Proteins, B. (2001). Current Protocols in Food Analytical Chemistry. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (May). <https://doi.org/10.1002/0471142913>
- Wu, M. J., O'Doherty, P. J., Fernandez, H. R., Lyons, V., Rogers, P. J., Dawes, I. W., & Higgins, V. J. (2011). An antioxidant screening assay based on oxidant-induced growth arrest in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research*, 11(4), 379–387. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2011.00726.x>
- Yang, W., Yin, G., Zhou, D., Gu, J., & Li, Y. (2010). In vitro characteristics of surface-modified biphasic calcium phosphate/poly(L-Lactide) biocomposite. *Advanced Engineering Materials*, 12(4), 19–23. <https://doi.org/10.1002/adem.200980025>

ANEXOS

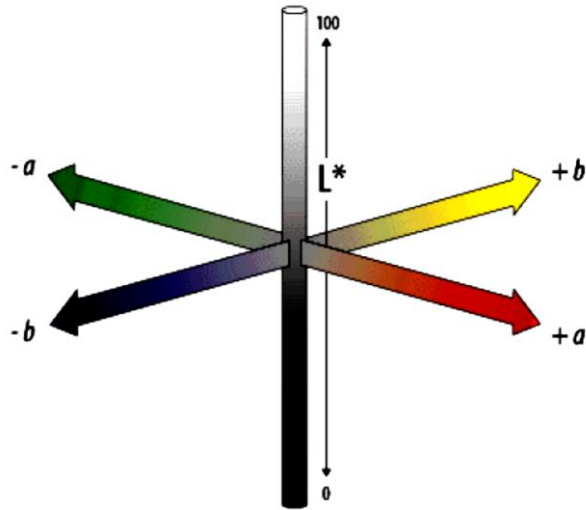
Anexo 1. Determinación de las características físicas de la Berenjena (*Solanum melongena*).

N° Unidades	Parámetro				
	Diámetro (cm)	Longitud (cm)	Peso (g)	Volumen (ml)	Densidad (g/ml)
1	7,7	15,3	217,29	41	5,3
2	7,3	14,9	198,54	38	5,2
3	7,9	15,5	218,61	43	5,1
4	7,5	15,9	216,74	40	5,4
5	7,5	14,8	215,22	39	5,5
6	7,1	16	193,35	37	5,2
7	7,3	15,5	215,87	38	5,7
8	7,7	15,5	217,14	42	5,2
9	7,8	15,1	219,51	44	5,0
10	8,0	14,9	220,36	45	4,9
\bar{x}	7,58	15,34	213,263	40,7	5,3

N° Unidades	Color		
	L* (Luminosidad)	a* (Componente rojo-verde)	b* (Componente amarillo-azul)
1	25,7	5	2,1
2	26,1	5,5	2,4
3	25,4	4,7	2,6
4	28,4	6,0	2,3
5	24,5	6,0	2,0
6	25,9	4,5	3,7
7	24,3	5,7	3,9
8	25,2	5,2	2,1
9	28,2	5,0	3,9
10	25,6	5,5	2,4
\bar{x}	25,93	5,31	2,74

L* estándar 0-100; a*, b* estándar 0;

Anexo 2. Modelo de color CIELab e interpretación y escala de los parámetros de color del sistema.



(Noor, Mokhtar, Rafiqul, & Pramod, 2012)

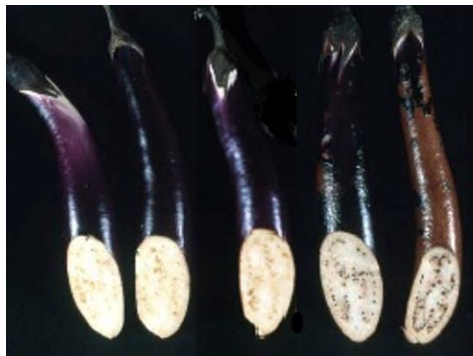
Parámetro	Escala	Interpretación
L*	0-100	Luminosidad o claridad L*= 0; negro L*= 100; blanco
a*	0	Desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad. a*= + ; rojo a*= - ; verde
b*	0	Desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad. b*= + ; amarillo b*= - ; azul

Anexo 3. Determinación del color en base a Encycolorpedia.



The image shows a screenshot of the Encycolorpedia website. At the top, the logo "Encycolorpedia" is displayed in a large, green, stylized font. Below the logo is a search bar containing the hex code "473b39" and a "Buscar" button. Underneath the search bar, there are navigation links: "Pintura", "Colores web", "Colores HTML", "Colores nombrados", and "Ayuda". Below these links are social media icons for Twitter, Facebook, and Pinterest, along with an email icon and the text "Boletín informativo". The main content area features the text "#473b39 código de color hex". Below this, there is a small color swatch with the hex code "473B39" and a table of values: 71, 59, 57. To the right of the swatch, there is a detailed description: "El código de color hexadecimal #473b39 es una sombra oscura media de rojo. En el modelo de color RGB #473b39 dicho color se compone de 27.84% de rojo, 23.14% de verde y 22.35% de azul. En el espacio de color HSL #473b39 tiene un tono de 9° (grados), 11% de saturación y 25% de luminosidad. Este color tiene una longitud de onda aproximada de 596.62 nm."

Anexo 4. Escala de maduración de la Berenjena.



Anexo 5. Determinación de características químicas de la Berenjena (*Solanum melongena*).

N° Unidad	Parámetros	
	pH	°Bx
1	5,7	2,8
2	5,9	2,1
3	5,6	3,0
4	5,3	2,5
5	6,0	3,1
6	5,6	2,0
7	5,8	3,3
8	5,5	4,2
9	5,5	2,9
10	5,7	2,8
\bar{x}	5,66	2,87

Anexo 6. Datos de la extracción y cuantificación de antocianinas mediante espectrofotometría UV-Vis.

Réplica	Relación	Código	Peso	Abs	Concentración (mg/100g)	% Humedad	Sólidos totales	Promedio
1	1:20 r ₁ t ₁	r ₁ t ₁	2,5047	0,2432	4,99	97,35	2,65	2,60
2				0,2664	5,46	97,44	2,56	
3				0,2762	5,66	97,42	2,58	
1		r ₂ t ₁	2,5006	0,2377	4,88	97,40	2,60	2,51
2				0,2652	5,44	97,50	2,50	
3				0,2626	5,39	97,57	2,43	
1		r ₃ t ₁	2,5032	0,2176	4,46	97,50	2,50	2,54
2				0,2198	4,51	97,45	2,55	
3				0,2163	4,43	97,43	2,57	
1	1:20 r ₁ t ₂	r ₁ t ₂	2,5084	0,2385	4,88	97,08	2,92	2,84
2				0,2618	5,16	97,19	2,81	
3				0,2555	5,23	97,20	2,80	
1		r ₂ t ₂	2,5005	0,2769	5,69	97,27	2,73	5,71
2				0,3066	6,30	97,30	2,71	
3				0,3101	6,37	97,31	2,69	
1		r ₃ t ₂	2,5063	0,2456	5,03	97,34	2,66	2,68
2				0,2573	5,27	97,30	2,70	
3				0,2589	5,31	97,33	2,67	
1	1:25 r ₂ t ₁	r ₁ t ₃	2,0028	0,2386	6,12	97,90	2,10	2,08
2				0,2643	6,78	97,91	2,09	
3				0,2718	6,97	97,94	2,07	
1		r ₂ t ₃	2,0000	0,2420	6,22	97,98	2,02	2,05
2				0,2668	6,85	97,94	2,07	
3				0,2768	7,11	97,94	2,06	
1		r ₃ t ₃	2,0080	0,2085	5,33	98,03	1,97	1,97
2				0,2228	5,70	98,03	1,97	
3				0,2313	5,92	98,03	1,97	
1	1:25 r ₂ t ₂	r ₁ t ₄	2,0070	0,2097	5,37	97,67	2,33	2,31
2				0,2299	5,88	97,70	2,30	
3				0,2350	6,01	97,70	2,30	
1		r ₂ t ₄	2,0025	0,2043	5,24	97,69	2,31	2,26
2				0,2296	5,89	97,73	2,27	
3				0,2375	6,09	97,80	2,20	
1		r ₃ t ₄	2,0006	0,5054	5,27	97,66	2,34	2,31
2				0,2315	5,94	97,71	2,30	
3				0,2319	5,95	97,70	2,30	

r₁ t₁= relación 1:20, 60 minutos; r₁ t₂= relación 1:20, 120 minutos; r₂ t₁= relación 1:25, 60 minutos; r₂ t₂= relación 1:25, 120 minutos

Anexo 7. Análisis de Varianza para determinar la concentración de antocianinas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: relación	7,92188	1	7,92188	1007,37	0,0000
B: tiempo	0,0200083	1	0,0200083	2,54	0,1618
AB	2,31441	1	2,31441	294,31	0,0000
bloques	0,00221667	2	0,00110833	0,14	0,8713
Error total	0,0471833	6	0,00786389		
Total (corr.)	10,3057	11			

R-cuadrada = 99,5422 porciento

Optimizar Respuesta

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
relación	20,0	25,0	25,0
tiempo	1,0	2,0	1,0

Anexo 8. Porcentaje de eficiencia de microencapsulación con Maltodextrina y Mezcla (maltodextrina-goma arábica).

Disolvente 1/10	Réplica	Absorbancia	Concentración (mg/100g)	% EE
Agua	Maltodextrina			
	1	0,1368	1,41	79,91
	2	0,1377	1,41	79,75
	3	0,1362	1,40	80,04
	4	0,1369	1,41	79,71
Etanol 96 %	1	0,0275	0,28	-
	2	0,0279	0,29	-
	3	0,0272	0,28	-
	4	0,0278	0,29	-
Agua	Mezcla (maltodextrina-goma arábica)			
	1	0,2101	2,16	91,48
	2	0,2150	2,21	91,30
	3	0,2154	2,21	90,99
	4	0,2157	2,21	91,38
Etanol 96 %	1	0,0179	0,18	-
	2	0,0187	0,19	-
	3	0,0194	0,20	-
	4	0,0186	0,19	-

Anexo 9. Análisis de Varianza para determinar la eficiencia de microencapsulación.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	261,518	1	261,518	7708,72	0,0000
Intra grupos	0,20355	6	0,033925		
Total (Corr.)	261,722	7			

Método: 95,0 porcentaje Duncan

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Maltodextrina	4	79,8525	X
Maltodextrina y Goma arábica	4	91,2875	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>
Maltodextrina - Maltodextrina y Goma arábica	*	-11,435

* indica una diferencia significativa.

Anexo 10. Análisis de Varianza para determinar el potencial antioxidante *in vitro*.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4863,45	1	4863,45	343,32	0,0000
Intra grupos	84,9956	6	14,1659		
Total (Corr.)	4948,44	7			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje Duncan

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
BMAA	4	257,875	X
BMGAA	4	307,188	X

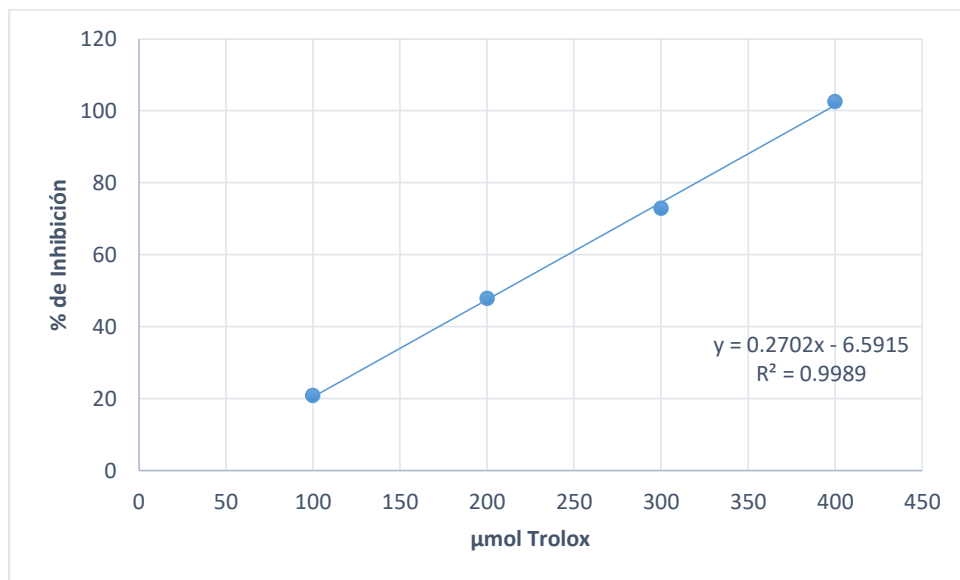
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>
BMAA - BMGAA	*	-49,3125

* indica una diferencia significativa.

Anexo II. Resultados de la inhibición por DPPH (*in vitro*).

Muestras	Réplicas	Absorbancia	% de Inhibición	μmol equivalentes de Trolox/ g microencapsulado
Maltodextrina	1	0,2147	63,22	258,36
	2	0,2192	64,68	263,77
	3	0,2388	61,60	252,36
	4	0,2138	62,85	257,01
Mezcla (maltodextrina-goma arábica)	1	0,1754	76,64	308,03
	2	0,1836	76,61	307,92
	3	0,1958	75,43	303,54
	4	0,1726	76,97	309,26

Curva de calibración entre el % de Inhibición vs. μmol equivalentes de Trolox.



Anexo 12. Absorbancias máximas de las curvas de *Saccharomyces cerevisiae* a diferentes concentraciones de agentes oxidantes y antioxidantes.

Muestras	[H₂O₂] mmol/l	Absorbancia máxima a 600 nm
Vitamina C 25 mg/ml	3	1,215
Vitamina C 25 mg/ml	0,5	1,226
Vitamina C 50 mg/ml	3	1,222
Vitamina C 50 mg/ml	0,5	1,271
Maltodextrina 25 mg/ml	3	1,154
Maltodextrina 25 mg/ml	0,5	1,228
Maltodextrina 50 mg/ml	3	1,166
Maltodextrina 50 mg/ml	0,5	1,258
Mezcla (MD + GA) 25 mg/ml	3	1,207
Mezcla (MD + GA) 25 mg/ml	0,5	1,265
Mezcla (MD + GA) 50 mg/ml	3	1,271
Mezcla (MD + GA) 50 mg/ml	0,5	1,325
Levadura	3	1,008
Levadura	0,5	1,116
Levadura	-	1,133

MD=maltodextrina, GA=goma arábica

Anexo 13. Análisis de Varianza para determinar el potencial antiinflamatorio del producto microencapsulado.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	14823,9	11	1347,63	129,54	0,0000
Intra grupos	249,672	24	10,403		
Total (Corr.)	15073,6	35			