



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Evaluación de diferentes polímeros en la microencapsulación de antocianinas
extraídas a partir de papa morada variedad Yana-shungo

Trabajo de Titulación, modalidad de proyecto de investigación, previa 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: Kelly Paola Guanoquiza Zambrano

Tutor: PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador

Enero 2020

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, 26 de Noviembre de 2019



PhD. Orestes López Hernández

C.I. 175478486-4

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

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



Srta. Kelly Paola Guanoquiza Zambrano

C.I. 050426078-7

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS 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.

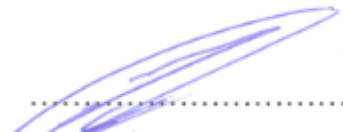
Para constancia firman:



Presidente del tribunal



M Sc. Danae Fernández Rivero
C.I. 175718120-9



Mg. Fernando Cayetano Álvarez Calvache
C.I. 180104502-0

Ambato, 06 de enero de 2020

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. Kelly Paola Guanoquiza Zambrano

C.I. 050426078-7

AUTORA

DEDICATORIA

A Dios por haberme regalado la vida y darme la oportunidad de compartirla junto a mi familia. Por guiarme a lo largo de mi existencia y por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad.

A mis padres Luis Guanoquiza y Sonia Zambrano por su amor y apoyo incondicional, por ser el mejor ejemplo de lucha y superación, por cada uno de los valores inculcados hacia mí y sobre todo por estar en los peores momentos de mi vida.

A mis hermanas Anabel y Melannie por compartir cada uno de mis triunfos y fracasos y por brindarme su apoyo incondicional a lo largo de este proceso.

A mi sobrino Jesús Martínez, por brindarme su amor sincero y por cada uno de los gratos momentos compartidos.

A mi compañero de vida, Cristian, por todos los buenos y malos momentos compartidos, por cada una de sus enseñanzas, por todos los obstáculos superados y sobre todo por su amor y amistad sincera.

LA CONFIANZA EN TI MISMO ES LA CLAVE DEL ÉXITO

Kelly Guanoquiza

AGRADECIMIENTOS

A mi padre celestial, por cada una de las bendiciones derramadas sobre mí durante esta etapa de mi vida, por guiar y cuidar mis pasos, por brindarme la oportunidad de vivir gratas experiencias y de conocer personas maravillosas que han sido mi apoyo y compañía durante mi carrera universitaria.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por abrirme sus puertas, por todos los conocimientos, enseñanzas y experiencias compartidas y principalmente por ser el medio ejecutor de tan anhelado sueño.

Al PhD. Orestes López por su apoyo incondicional y por ser el guía durante todo el proceso del trabajo de investigación, gracias por brindarme su amistad.

Al Mg. Fernando Álvarez y a la M Sc. Danae Fernández por ayudarme con sus conocimientos y experiencias durante la realización de la investigación.

A todos los docentes que fueron parte de mi formación profesional, por haberme transmitido su conocimiento y ser el apoyo para mi superación personal y profesional. Un abrazo eterno.

A mis padres Luis y Sonia por nunca abandonarme en los peores momentos de mi vida. Mi amor infinito para Uds.

A mis hermanas Anabel y Melannnie por nunca dudar de mí y por ser las mejores amigas.

A mi sobrino Jesús Martínez por su amor sincero.

A mi compañero de vida, Cristian, por enseñarme a siempre seguir adelante a pesar de las adversidades de la vida, por ser mi apoyo en todo momento, por siempre confiar en mí. Te Amo!

Gracias Infinitas

INDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PORTADA	I
APROBACIÓN DEL TUTOR	II
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	III
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	IV
DERECHOS DE AUTOR	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTOS	VII
INDICE GENERAL DE TABLAS	X
RESUMEN EJECUTIVO	XI
ABSTRACT	XII
CAPITULO I	13
MARCO TEORICO	13
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	13
1.1.1. Descripción de la planta.....	13
1.1.1.1. Papas nativas.....	13
1.1.1.2. Variedad INIAP-Yana Shungo (Solanum andígena).....	13
1.1.1.2.1. Características morfológicas.....	14
1.1.1.2.2. Características agronómicas.....	14
1.1.1.2.3. Características de calidad.....	15
1.1.2. Compuestos fotoquímicos en Solanum andígena (Estudios realizados).....	15
1.1.3. Antocianinas.....	16
1.1.4. Microencapsulación.....	16
1.1.5. Microencapsulación mediante secado por aspersión.....	17
1.2. HIPOTESIS.....	17
1.2.1. Hipótesis nula.....	17
1.2.2. Hipótesis alternativa.....	18
1.3. SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPOTESIS.....	18
1.3.1. Variables dependientes.....	18
1.3.2. Variables independientes.....	18
1.4. OBJETIVOS.....	18
1.4.1. Objetivo General.....	18
1.4.2. Objetivos Específicos.....	18
CAPITULO II	19
METODOLOGIA	19

2.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS DE LABORATORIO	19
2.1.1.	Materiales.....	19
2.1.2.	Equipos	19
2.1.3.	Reactivos.....	20
2.2.	METODOS	20
2.2.1.	Trabajo de campo.....	20
2.2.1.1.	Recolección de tubérculos.....	20
2.2.2.	Trabajo de laboratorio.....	20
2.2.2.1.	Análisis físico.....	20
2.2.2.1.1.	Peso	20
2.2.2.1.2.	Tamaño	21
2.2.2.2.	Preparación del material vegetal	21
2.2.2.3.	Obtención de extractos vegetales líquidos	21
2.2.2.4.	Análisis químico	22
2.2.2.4.1.	Determinación de humedad	22
2.2.2.4.2.	Determinación de sólidos totales	22
2.2.2.5.	Determinación de Antocianinas	22
2.2.2.6.	Microencapsulación	23
2.2.2.7.	Eficiencia de microencapsulación.....	23
2.2.2.8.	Espectroscopia Infrarroja FT-IR	23
2.2.2.9.	Análisis Estadístico	24
2.2.2.10.	Evaluación de la actividad antioxidante.....	24
	CAPITULO III	25
	RESULTADOS Y DISCUSION	25
3.1.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	25
3.1.1.	Análisis físico.....	25
3.1.1.1.	Peso	25
3.1.1.2.	Tamaño.....	26
3.1.2.	Análisis químico	26
3.1.2.1.	Determinación de humedad.....	26
3.1.2.2.	Determinación de sólidos totales	26
3.1.3.	Eficiencia de microencapsulación.....	26
3.1.4.	Análisis Estadístico	27
3.1.5.	Espectroscopia Infrarroja FT-IR	28
3.1.6.	Evaluación de la actividad antioxidante.....	32

3.1.7. Verificación de la hipótesis.....	35
CAPITULO IV	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
4.1. CONCLUSIONES	35
4.2. RECOMENDACIONES.....	36
5. BIBLIOGRAFIA	37
ANEXOS	43

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características morfológicas de la variedad INIAP-Yana Shungo	14
Tabla 2. Características agronómicas de la variedad INIAP-Yana Shungo.....	14
Tabla 3. Parámetros de calidad de la variedad INIAP-Yana Shungo	15

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Variedad INIAP-Yana Shungo	15
Figura 2. Estructura base y principales antocianinas identificadas.....	16
Figura 3. Diámetro longitudinal (A) y diámetro ecuatorial (B) de la variedad INIAP-Yana Shungo	21
Figura 4. Determinación de antocianinas de papa morada variedad Yana-Shungo por el método propuesto por (Abdel-Aal & Hucl, 1999)	27
Figura 5. Determinación de eficiencia de microencapsulación de los polímeros utilizados como agentes encapsulantes	28
Figura 6. Comparación de los espectros FT-IR obtenidos del extracto de antocianinas con las muestras microencapsuladas y el polímero.....	31
Figura 7. Actividad antioxidante determinada a través de las curvas de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33

RESUMEN EJECUTIVO

El principal objetivo del proyecto de investigación fue la evaluación de diferentes polímeros en la microencapsulación de antocianinas extraídas a partir de papa morada variedad Yana Shungo, estos polímeros fueron la Maltodextrina, una combinación en proporciones iguales de Maltodextrina y Goma Arábica y Proteína concentrada de Suero Lácteo. Se obtuvieron tres microencapsulados, los cuales fueron utilizados en los análisis de espectroscopia infrarroja, espectrofotometría UV-visible y determinación de actividad antioxidante. A través del análisis de espectroscopia infrarroja se demostró que las antocianinas extraídas de papa morada se encontraban recubiertas por los polímeros utilizados como agentes encapsulantes. El análisis de espectrofotometría UV-visible se realizó con la finalidad de determinar la eficiencia de microencapsulación de los diferentes polímeros utilizados obteniendo como resultados un 92,62 % para Maltodextrina, 90,01 % para la mezcla de polímeros y 89,94 % para la Proteína concentrada de Suero. Finalmente, para determinar la capacidad antioxidante de las microesferas obtenidas se realizó un análisis *in vivo* utilizando como organismo vivo *Saccharomyces cerevisiae* y peróxido de hidrógeno como promotor de estrés oxidativo a diferentes niveles de concentración y mediante curvas de crecimiento se demostró que gracias a la actividad antioxidante de las antocianinas microencapsuladas el organismo vivo en estudio pudo adaptarse y desarrollarse.

Palabras clave: Actividad antioxidante, extracción, microesferas, eficiencia de microencapsulación

ABSTRACT

The main objective of the research project was the evaluation of different polymers in the microencapsulation of anthocyanins extracted from purple potato variety Yana Shungo, these polymers were Maltodextrin, a combination in equal proportions of Maltodextrin and Gum Arabic and concentrated Whey Protein. Three microencapsules were obtained, which were used in spectroscopic analysis, visible UV spectrophotometry and antioxidant activity determination. Through infrared spectroscopy analysis it was shown that anthocyanins extracted from purple potato were coated by polymers used as encapsulating agents. UV-visible spectrophotometry analysis was performed in order to determine the microencapsulation efficiency of the different polymers, obtaining 92.62% for Maltodextrin, 90.01% for the polymer mixture and 89.94% for the concentrated whey protein. Finally, to determine the antioxidant capacity of the microcapsules obtained, a live analysis was carried out using *Saccharomyces cerevisiae* and hydrogen peroxide as oxidative stress promoter at different concentration levels and through growth curves it was demonstrated that thanks to the antioxidant activity of the encapsulated anthocyanins the living organism under study could adapt and develop.

Keywords: antioxidant activity, extraction, microspheres, microencapsulation efficiency.

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

1.1.1. Descripción de la planta

1.1.1.1. Papas nativas

Los tubérculos andinos, forman parte de la dieta básica no solo de pobladores de la zona interandina, sino que también del litoral y Amazonia (**Guerrero et al., 2015**). Las papas nativas son autóctonas de los Andes y fueron cultivadas hace 3 000 a 4 000 años A.C. En épocas preincaicas, los pobladores daban diferentes usos a las papas, principalmente eran utilizadas con fines medicinales (**Monteros & Reinoso, 2010**). Las papas nativas son el resultado de un proceso de selección y conservación ancestral, herencia de pobladores antiguos de la zona Andina. Estas papas son muy valoradas por científicos y agricultores, no solo por sus propiedades organolépticas, sino también por sus propiedades agrícolas (**Monteros, Cuesta, Jiménez & López, 2005**). Las papas nativas ecuatorianas muestran una gran diversidad de formas, tamaños y colores dependiendo de la variedad a la que pertenezcan. Existen papas nativas que poseen colores exóticos y llamativos con color de piel amarilla, roja, rosada o morada con altos contenidos de polifenoles y antocianinas con capacidad antioxidante natural que protegen al cuerpo humano del daño por radicales libres. Principalmente, las variedades Yana Shungo y Puca Shungo presentan esta particularidad (**Monteros et al., 2011**).

1.1.1.2. Variedad INIAP-Yana Shungo (*Solanum andígena*)

La variedad INIAP-Yana Shungo (*Solanum andígena*) es cultivada entre los 2 900 y 3 300 metros de altura para su procesamiento y para consumo en fresco es recomendable sembrarla sobre los 3 300 metros. Presenta resistencia moderada a *Phytophthora infestans*, contiene altas cantidades de minerales (hierro, zinc, potasio), y alto contenido de polifenoles que actúan como antioxidantes naturales con efecto protector ante enfermedades degenerativas (**Andre et al., 2007**).

1.1.1.2.1. Características morfológicas

Según Gómez, (2000) la variedad INIAP-Yana Shungo presenta las siguientes características morfológicas:

Tabla 1. Características morfológicas de la variedad INIAP-Yana Shungo

PARTES	DESCRIPCIÓN
Tubérculo	Forma oblonga concertinada, piel de color negruzco con manchas moradas dispersas, pulpa crema con anillo vascular y medula de color morado. Ojos profundos, brotes de color morado.
Plantas	Vigorosa, con forma de crecimiento semi-erecto.
Hojas	Color verde oscuro, abiertas, disectadas. Cuatro pares de folíolos laterales y dos pares de inter hojuelas entre los folíolos.
Tallos	Gruesos de pigmentación morada con pocas áreas verdes y presencia de alas rectas.
Flores	Color blanco claro, la corola es semi estrellada, el cáliz presenta pigmentación purpura con verde, el pedicelo es ligeramente pigmentado a lo largo y en la articulación. Las anteras y el pistilo no presentan pigmentación.
Frutos	Baya abultada de color verde intenso.

Fuente: INIAP-Ficha técnica de la variedad de papa INIAP-Yana Shungo, 2011.

1.1.1.2.2. Características agronómicas

En la siguiente tabla se detallan las principales características agronómicas de la papa nativa variedad INIAP-Yana Shungo:

Tabla 2. Características agronómicas de la variedad INIAP-Yana Shungo

VARIABLE	DESCRIPCION
Días a la floración	55-75
Días a la cosecha	120-150
Habito de crecimiento	Semi erecto
Resistencia a lancha	Moderada
Vigor de la planta	Vigorosa
Cobertura de planta	Completa
Altura de planta (m)	0.90-1.20
N° de tubérculos por planta	15-25
Tipo de brotación	Múltiple
% Tubérculo Grueso	73
% Tubérculo Mediano	17
% Tubérculo Fino	10

Fuente: INIAP-Ficha técnica de la variedad de papa INIAP-Yana Shungo, 2011.

1.1.1.2.3. Características de calidad

En la siguiente tabla se detallan las principales características nutricionales de la papa nativa variedad INIAP-Yana Shungo:

Tabla 3. Parámetros de calidad de la variedad INIAP-Yana Shungo

VARIABLE	DESCRIPCION
Materia seca (%)*	20,1-22,0
Azucares reductores (%)*	0,10-0,19
Proteína (%)*	10-11
Polifenoles mg/100g*	198-385
Verdeamiento (días)*	40-50
P (%)*	0,18-0,20
Mg (%)*	0,08-0,17
K (%)*	2,60-3,85
Na (%)*	0,02-0,03
Cu (%)*	5-6
Fe (%)*	82-86
Mn (%)*	2-4
Zn (%)*	11-13

Fuente: Departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, 2011.

* Datos en base seca



Figura 1. Variedad INIAP-Yana Shungo

Fuente: Cultivares de papas nativas INIAP, 2010.

1.1.2. Compuestos fotoquímicos en *Solanum andígena* (Estudios realizados)

Los tubérculos de papa morada contienen una gran cantidad de compuestos fenólicos que incluyen: fenoles monohídricos, cumarinas, flavonas, taninos y lignina. Además, poseen ácidos fenólicos tales como clorogénico, cafeico, protocatequico y p-cumarico, entre otros identificados tanto en papas de pulpa roja como púrpura (**Lachman, 2008**).

En estudios realizados con papa morada mediante el método HPLC, en cuanto antocianinas se encontró la presencia de glucósidos acilados de petunidina y malvidina (**Brown, Yang & Clevidence, 2003**).

(**Brown, Eichhorn & Winterhalter, 2005**) mencionan que los tubérculos de papa morada contienen distintas antocianinas dependiendo de su variedad genética, entre las antocianinas encontradas se encuentran malvidina, peonidina, pelargonidina y petunidina.

1.1.3. Antocianinas

Las antocianinas constituyen el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles presentes en plantas, pertenecen al grupo de flavonoides. Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, su estructura consta de una aglicona que le da la característica de antocianina unida a un azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estructura básica de las agliconas es el ion flavilio que se comporta como catión. Estos pigmentos naturales están presentes en varios órganos de las plantas tales como: frutas, flores, tallos, hojas y raíces. Hasta el momento, se han reportado 635 antocianinas diferentes, con distintas estructuras base. Las antocianinas más frecuentes en plantas presentan una variación estructural en el anillo B y son: pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina y malvidina (**Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. 2017**).

Anthocyanidin	Basic structure	R ₁	R ₂	R ₃	Main color	Examples of sources
Cyanidin		-OH	-OH	-H	Reddish-orange	Apple, elderberry, blackberry, nectarine, plum, peach, red cabbage
Delphinidin		-OH	-OH	-OH	Purple, blue	Grapes, beans, eggplants, oranges
Pelargonidin		-H	-OH	-H	Orange	Strawberries, red radishes, some beans
Malvidin		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	Purple	Grapes
Peonidin		-OCH ₃	-OH	-H	Purplish-red	Cranberries, blueberries, plums, grapes, cherries, purple corn
Petunidin		-OH	-OH	-OCH ₃	Dark-red or purple	Grapes, red berries

Figura 2. Estructura base y principales antocianinas identificadas

Fuente: Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017).

1.1.4. Microencapsulación

Las técnicas de microencapsulación han sido utilizadas ampliamente en las industrias farmacéuticas y alimenticias. La microencapsulación es una técnica de empaquetamiento de materiales líquidos, sólidos o gaseosos empleando polisacáridos

como agentes encapsulantes, los cuales contienen en su interior una sustancia activa (**Sun, Cameron & Bai, 2019**). Dicha técnica ha sido empleada principalmente con el objetivo de proteger a las sustancias bioactivas que se encuentran en el interior de una película rígida de factores externos como luz, oxígeno, humedad, entre otras., que afecten su actividad biológica, además de controlar su liberación en el tiempo (**Pajaro et al., 2017**).

Las microcápsulas, resultado del proceso de microencapsulación en su forma más simple son pequeñas esferas con una pared uniforme que la rodea. El material dentro de esta esfera se conoce como núcleo o agente activo y el material que lo recubre se denomina cápsula, membrana o material de pared (**Matiacevich & Sáez, 2017**). A pesar de que existe una variedad de métodos de encapsulación, los más aplicados en la industria farmacéutica y alimentaria son emulsificación, secado spray y liofilización.

1.1.5. Microencapsulación mediante secado por aspersion

La técnica de secado por aspersion ha sido empleada industrialmente con distintos fines desde su descubrimiento en 1932. Esta tecnología es utilizada principalmente en la industria de alimentos y/o agroalimentaria para la obtención de productos en polvo a partir de un líquido concentrado. Su principio se basa en la atomización del líquido formando pequeñas microgotas que al estar en contacto con la corriente de aire caliente son pulverizadas (**Mondragón et al., 2013**).

Las ventajas de utilizar esta técnica de microencapsulación radica en los cortos tiempos de producción, su factibilidad económica, disponibilidad, simplicidad y la exposición del producto a bajas temperaturas, parámetro crucial para aquellos compuestos volátiles, debido a que promueve una alta retención de sabor, color y nutrientes (**Ferrari et al., 2012; Ahmed et al., 2010**).

1.2. HIPOTESIS

1.2.1. Hipótesis nula

Las antocianinas extraídas a partir de papa morada variedad Yana Shungo y microencapsuladas con los diferentes polímeros utilizados no tienen actividad antioxidante.

1.2.2. Hipótesis alternativa

Las antocianinas extraídas a partir de papa morada variedad Yana Shungo y microencapsuladas con los diferentes polímeros utilizados tienen actividad antioxidante.

1.3. SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPOTESIS

1.3.1. Variables dependientes

- Propiedades antioxidantes y eficiencia de Microencapsulación de los polímeros utilizados.

1.3.2. Variables independientes

- Polímeros de microencapsulación (Maltodextrina, Goma arábica, Proteína concentrada de suero).

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

- Microencapsular antocianinas extraídas de papa morada (*Solanum andigena*) empleando tres polímeros diferentes: maltodextrina, goma arábica y proteína concentrada de suero.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar físico-químicamente el material vegetal utilizado.
- Evaluar los microencapsulados obtenidos mediante espectroscopia infrarroja.
- Determinar la eficiencia de microencapsulación de los polímeros empleados.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vivo* de los microencapsulados obtenidos.

CAPITULO II

METODOLOGIA

2.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS DE LABORATORIO

2.1.1. Materiales

- Matraces
- Balones de aforo
- Pipetas
- Pipetas pasteur
- Probetas graduadas
- Peras de succión
- Micropipetas
- Tubos de centrífuga
- Frascos de tapa azul
- Gradillas
- Vasos de precipitación
- Microplacas de 96 pocillos para espectrofotómetro
- Tubos de ensayo
- Papel aluminio

2.1.2. Equipos

- Plancha de calentamiento (Corning PC-620D)
- Centrifuga (Rotina 380)
- Calibrador pie de rey (BP GOLD)
- Balanza de humedad (KERN MLS 50-3)
- Espectrofotómetro UV-VIS
- Equipo mini Spray Dryer Büchi B-290
- Computadora laptop con sistema operativo Windows 10
- Software de análisis de datos estadístico y gráfico, centurión XV versión 15.2.05 2007
- Rotoevaporador (IKA RV 8 V-C)
- Espectrofotómetro Infrarrojo FT-IR
- Estufa Grander MTN (CD-160)

- Molino manual
- Balanza analítica

2.1.3. Reactivos

- Ácido clorhídrico (1 mol/L)
- Etanol al 96 %
- Agua destilada
- Buffer Fosfato Salino (PBS)
- Maltodextrina
- Goma Arábica
- Proteína concentrada de suero
- Medio YPD
- Peróxido de hidrógeno
- Vitamina C
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

2.2. METODOS

2.2.1. Trabajo de campo

2.2.1.1. Recolección de tubérculos

Los mejores ejemplares de la papa nativa variedad Yana Shungo fueron recaudados en el Consorcio de Productores de Papa de la Región Central del Ecuador (CONPAPA) ubicado en la provincia de Tungurahua, cantón Ambato, sector Mercado Mayorista Av. El cóndor. Se transportó el material vegetal en fundas herméticamente selladas a temperatura ambiente hacia el laboratorio de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos FCIAB-UODIDE para su posterior análisis.

2.2.2. Trabajo de laboratorio

2.2.2.1. Análisis físico

2.2.2.1.1. Peso

Para la determinación del peso individual de la papa morada se utilizó una balanza Light Tx-2000 con precisión de 0,1mg.

2.2.2.1.2. Tamaño

Para la determinación del tamaño de la papa se midió el diámetro longitudinal (A) y ecuatorial (B) mediante un calibrador (pie de rey), como se indica en la Figura 3.

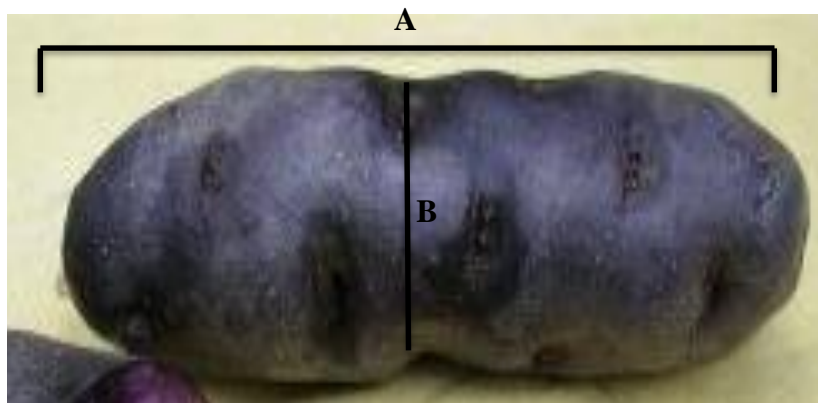


Figura 3. Diámetro longitudinal (A) y diámetro ecuatorial (B) de la variedad INIAP-Yana Shungo

(Hasbún & Brenes, 2009)

2.2.2.2. Preparación del material vegetal

En el laboratorio de la FCIAB-UODIDE de la UTA, para el trabajo de investigación, se procedió a lavar el material vegetal con la finalidad de eliminar impurezas que pudieran afectar los resultados. Posteriormente, las papas fueron sometidas a un proceso de secado, para facilitar dicho proceso se realizaron cortes en las papas tipo hojuelas. Subsecuentemente, la muestra se extendió sobre mallas metálicas y se las colocó en un horno secador (marca Gander MTN) a 60 °C de temperatura por 24 horas. Finalmente, la muestra seca se pasó a través de un molino manual para obtener un polvo fino que facilite el proceso de extracción de metabolitos secundarios del tubérculo.

Cardona, Ríos & Restrepo, (2006) menciona que la ventaja principal del proceso de secado del material vegetal es que permite una penetración adecuada del disolvente, además al estar en estado sólido (forma de polvo) la superficie de contacto es mayor, facilitando de esta manera la extracción del principio activo de interés.

2.2.2.3. Obtención de extractos vegetales líquidos

Para la extracción de metabolitos de papa morada variedad Yana Shungo (*Solanum andigena*) se efectuó un proceso de separación sólido-líquido. Se utilizó etanol al

96 % como disolvente en combinación con ácido clorhídrico 1 mol/L en proporción 85/15 y una relación material vegetal/disolvente 1:20. Una vez realizada la mezcla, se la coloco en un reactor de acero inoxidable con agitación en una plancha de calentamiento (marca Corning PC-620D), durante 60 min a 68 °C de temperatura.

A continuación, la muestra se sometió a un proceso de filtración para separar el extracto líquido de restos vegetales y residuos sólidos. Finalmente, se procedió a eliminar el disolvente del extracto y a concentrar la muestra mediante un proceso de evaporación en un rotoevaporador (marca IKA RV 8 V-C). Se midió el volumen total de concentrado obtenido y se almacenó en un matraz Erlenmeyer cubierto con papel aluminio para evitar el contacto con la luz dentro de un refrigerador.

2.2.2.4. Análisis químico

2.2.2.4.1. Determinación de humedad

La humedad se determinó mediante el uso de una balanza de humedad marca KERN MLS 50-3(Aranda, 2018)

2.2.2.4.2. Determinación de sólidos totales

Los sólidos totales del extracto líquido se obtuvieron mediante mediciones de humedad por triplicado en una balanza de humedad (marca KERN MLS 50-3) con una caja Petri de vidrio. Finalmente, se calculó el porcentaje de sólidos totales utilizando la fórmula que se detalla a continuación:

$$\% \text{ Sólidos totales} = 100 - \% \text{ humedad}$$

2.2.2.5. Determinación de Antocianinas

Una vez obtenido el extracto vegetal líquido rico en antocianinas se determinó la concentración de antocianinas. Según Abdel-Aal & Hucl, (1999) se debe medir la absorbancia en un espectrofotómetro a 535 nm para reemplazar en la siguiente fórmula:

$$C \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times 1}$$

Dónde:

C: Es la concentración de antocianinas en mg/L

A: Es la absorbancia obtenida a 535 nm

ϵ : Absortividad molar (cianidina 3-glucósido 25965 cm⁻¹ M⁻¹)

DF: Factor de dilución

MW: Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449)

2.2.2.6. Microencapsulación

La microencapsulación de las antocianinas del extracto vegetal líquido concentrado se realizó utilizando como agentes encapsulantes Maltodextrina, Concentrado de proteína de suero y una mezcla en proporciones iguales de Maltodextrina y Goma arábica en una relación antocianinas/polímero 20:80 que se obtiene en base al contenido de sólidos totales, en un equipo de mini Spray Dryer BUCHI-B 290 con una temperatura de entrada de 150 °C y una temperatura de salida de 90 °C. El material encapsulante junto con el extracto de antocianinas pasó a través de la cámara de aspersión caliente formando microgotas y pulverizándose (Moser, 2017).

2.2.2.7. Eficiencia de microencapsulación

Una vez obtenidas las microesferas, se determinó la eficiencia de microencapsulación, utilizando la ecuación que se detalla a continuación, la cual relaciona la concentración de antocianinas presentes en el interior de las microesferas y en la superficie, obtenidas a través de un proceso de dilución del microencapsulado tanto en etanol como en agua respectivamente:

$$\% E.M = \frac{CA - CE}{CA} \times 100$$

Dónde:

CA: Concentración de antocianinas en la superficie

CE: Concentración de antocianinas en las microesferas.

2.2.2.8. Espectroscopia Infrarroja FT-IR

Una vez obtenido el microencapsulado de antocianinas se realizó el análisis de espectroscopia infrarroja FT-IR en la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo ESPOCH Facultad de Ciencias, Laboratorio de Química Instrumental. Este análisis fue necesario para determinar si las antocianinas extraídas a partir de papa morada

variedad Yana Shungo se encontraban recubiertas por los polímeros utilizados como agentes encapsulantes, para lo cual se utilizó el programa Spectra Analysis.

2.2.2.9. Análisis Estadístico

Para determinar el mejor agente encapsulante para antocianinas extraídas de papa morada, se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias sobre la eficiencia de microencapsulación y la concentración de antocianinas presente en cada uno de los polímeros utilizados. Los resultados obtenidos se procesaron en el programa estadístico Statgraphics centurión XV versión 15.2.05 2007. Para una mayor veracidad de los resultados obtenidos se realizaron cinco observaciones por cada procedimiento. Se empleó como variable dependiente la eficiencia de microencapsulación y la concentración de antocianinas y como variable independiente los tres agentes encapsulantes utilizados (Maltodextrina, Goma arábica, Proteína concentrada de suero).

2.2.2.10. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizaron cepas de levadura cultivadas en 200 ml de medio YPD compuesto por 4 g de glucosa, 2 g de extracto de levadura y 4 g de peptona, se cultivaron a 28°C de temperatura con agitación durante toda la noche. A continuación, se inoculó el cultivo sobre placas de agar con medio YPD y se incubaron a 28°C de temperatura por 72 h para obtener colonias individuales de levadura.

Con ayuda de un asa bacteriológica previamente esterilizada se tomó una sola colonia de cepa de levadura y se inoculó en 5 ml de medio YPD líquido fresco y se incubó a 28 °C de temperatura por 6 horas con agitación a 40 min⁻¹. Culminado este período, se inoculó un volumen de 5 µL de la dilución 1/10 de este precultivo en 3 mL de medio YPD junto con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 50 mg/ml es decir 1g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada. El procedimiento se repitió pero esta vez con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 25 mg/ml es decir 0,5g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada. Se incubó por 18 h a 28 °C de temperatura con agitación a 40 min⁻¹ en un rotador de tubos.

La vitamina C se utilizó como un resultado positivo, para lo cual se inoculó 5 µL de la dilución 1/10 del cultivo diluido en 3 ml de medio YPD y se añadió 1ml de vitamina C y para el control negativo se utilizaron cultivos sin ningún agente antioxidante.

Las células se recolectaron mediante centrifugación a 2700 min^{-1} , durante 20 minutos, a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura y se resuspendieron en 3 ml de PBS pH 7,4. Subsecuentemente, se leyó la absorbancia a 600 nm hasta alcanzar una lectura de 0,1 (añadiendo en caso de ser necesario alícuotas de suspensión de levadura o a su vez de PBS) con la finalidad de asegurar una concentración igual en todas las etapas. Las muestras se incubaron a $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura por 30 min.

Para inducir un estrés oxidativo, las células se incubaron durante 60 minutos a $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ con H_2O_2 (0,5 mmol/l y 3 mmol/l para cada concentración de microencapsulado). A continuación, el peróxido de hidrógeno fue eliminado mediante un proceso de centrifugación a 2700 min^{-1} , durante 20 minutos, a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Las células se resuspendieron en medio YPD fresco para el posterior análisis de crecimiento registrando la absorbancia a 600 nm como se describió anteriormente. Los experimentos se efectuaron por triplicado. El crecimiento de la levadura se controló utilizando un espectrofotómetro con lector de placas de 96 pocillos (Fisherbrand™ accuSkan™ GO) durante un periodo de 18 h con previa agitación a 600 min^{-1} antes de cada lectura (Pelález Soto & Patricia Roig Montoya, 2016).

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

3.1.1. Análisis físico

3.1.1.1. Peso

Se tomó el peso de 10 unidades de papa morada variedad Yana Shungo utilizando una balanza analítica, se obtuvo un valor referencial de peso de $268,15 \pm 55,24 \text{ g}$. Balladares, (2018) reporta en su trabajo de investigación un valor de peso de la papa morada de $272,30 \pm 56,37 \text{ g}$, valor similar al obtenido, esto debido a que las muestras

de papa en ambas investigaciones provienen de la provincia de Tungurahua. La elevada desviación típica entre los datos de peso de las unidades de papa según **Villacres et al, (2005)** es porque las papas nativas generalmente presentan tubérculos con gran variedad en tamaño y peso (entre 20 g y mayores a los 90 g).

3.1.1.2. Tamaño

Para la determinación del tamaño de las unidades de papa morada se midió tanto el diámetro longitudinal (largo) como el diámetro ecuatorial (ancho) mediante un calibrador pie de rey, se obtuvo valores referenciales de tamaño de $10,50 \pm 1,29$ cm y $6,72 \pm 0,38$ cm de largo y ancho respectivamente. **Untuña, (2013)** reporta valores inferiores a los obtenidos, $7,89 \pm 0,41$ cm y $5,93 \pm 0,57$ cm de largo y ancho. Dicha diferencia puede explicarse por la procedencia de las muestras de papa, en este caso **Untuña, (2013)** utilizó muestras de la provincia de Imbabura. **Martínez, (2009)** menciona que las características morfológicas de la papa se ve influenciada por condiciones de clima, suelo y lugar donde se realice la siembra.

3.1.2. Análisis químico

3.1.2.1. Determinación de humedad

La determinación de humedad se realizó una vez obtenido el extracto vegetal líquido rico en antocianinas con ayuda de una balanza de humedad. Se obtuvo un porcentaje de humedad de 70,17 %. El dato de humedad obtenido se utilizó en la determinación de sólidos totales del extracto.

3.1.2.2. Determinación de sólidos totales

La determinación de sólidos totales del extracto vegetal líquido se llevó a cabo utilizando la ecuación que se describe en la metodología, reemplazando los valores de humedad obtenidos con anterioridad. El porcentaje de sólidos totales del extracto vegetal fue del 29,83 %.

3.1.3. Eficiencia de microencapsulación

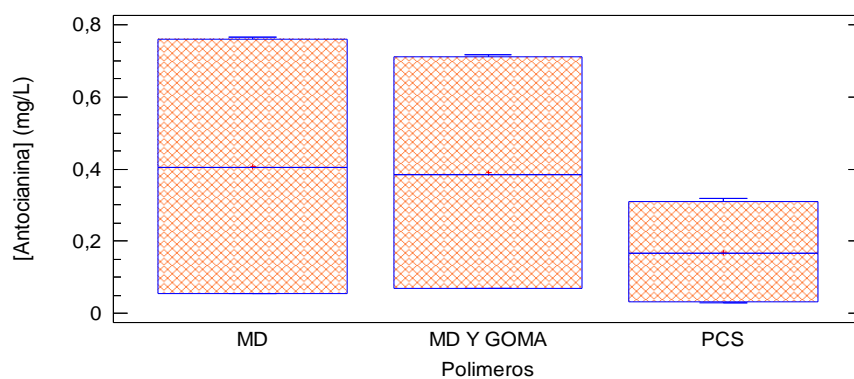
La eficiencia de microencapsulación de los polímeros utilizados como agentes encapsulantes se determinó a través de una relación entre la concentración de antocianinas presentes en el interior de las microesferas y la concentración de antocianinas en la superficie, cuyos microencapsulados fueron disueltos en etanol y

agua respectivamente. El polímero que presentó la mayor eficiencia fue el microencapsulado con Maltodextrina con un valor de 92,62 %, seguido del microencapsulado con Maltodextrina y Goma arábica con un 90,01 % de eficiencia y finalmente el microencapsulado con Proteína concentrada de Suero lácteo con un valor de 89,73 %. (Arrazola *et al.*, 2014) en su proyecto de investigación titulado microencapsulación de antocianinas de berenjena mediante secado por aspersion menciona que las temperaturas con la que se opera el equipo es un factor que influye mucho en la eficiencia de microencapsulación ya que a temperaturas muy elevadas conduce a un aumento en la pérdida de antocianinas debido a la alta sensibilidad de estos pigmentos naturales a altas temperaturas.

3.1.4. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias sobre la concentración de antocianinas y la eficiencia de microencapsulación de cada uno de los polímeros utilizados como agentes encapsulantes con la finalidad de determinar el polímero más eficiente en el proceso de microencapsulación.

En la figura 4 se muestra la comparación de concentración de antocianinas en los microencapsulados obtenidos.



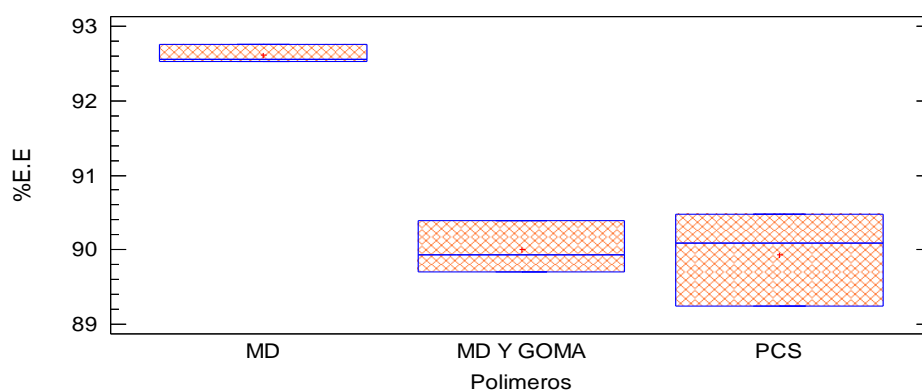
Leyenda: MD-Maltodextrina, MD+G-Maltodextrina y Goma arábica, PCS-Proteína Concentrada de Suero Lácteo.

Figura 4. Determinación de antocianinas de papa morada variedad Yana-Shungo por el método propuesto por (Abdel-Aal & Hucl, 1999)

A través del análisis estadístico realizado y mediante la prueba de múltiples rangos de Duncan se demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tres polímeros utilizados como agentes encapsulantes, puesto que el valor P (0,3697) de la prueba F es mayor a 0,05 con un 95,0% de nivel de confianza.

Sin embargo, pese a no existir diferencias significativas entre las tres variables, el polímero Maltodextrina obtuvo un valor de media mayor con respecto a la mezcla polimérica de Maltodextrina y Goma Arábica y a la Proteína Concentrada de Suero Lácteo según la prueba LSD de Fisher (diferencia menos significativa).

La figura 5 indica el porcentaje de eficiencia de cada uno de los polímeros utilizados como agentes encapsulantes: Maltodextrina, mezcla en cantidades iguales de Maltodextrina y Goma Arábica y Proteína concentrada de Suero Lácteo.



Leyenda: MD-Maltodextrina, MD+G-Maltodextrina y Goma arábica, PCS-Proteína Concentrada de Suero Lácteo, %E.E-Porcentaje de Eficiencia de Encapsulación.

Figura 5. Determinación de eficiencia de microencapsulación de los polímeros utilizados como agentes encapsulantes

La figura 5 indica que si existe diferencias estadísticamente significativas ($p: 0,0004$) en cuanto a la eficiencia de microencapsulación de antocianinas entre la Maltodextrina, mezcla polimérica de Maltodextrina y Goma Arábica y el Suero concentrado de proteína. El polímero con mayor eficiencia de microencapsulación fue la Maltodextrina con un valor de 92,62 %, la mezcla polimérica en igual proporción de Maltodextrina y Goma Arábica presento un valor de eficiencia de microencapsulación de 90,01 % y el Suero concentrado de proteína con un valor de 89,94 % de eficiencia. Sin embargo, a pesar de existir diferencia significativa en los porcentajes de eficiencia, los valores obtenidos no están distantes.

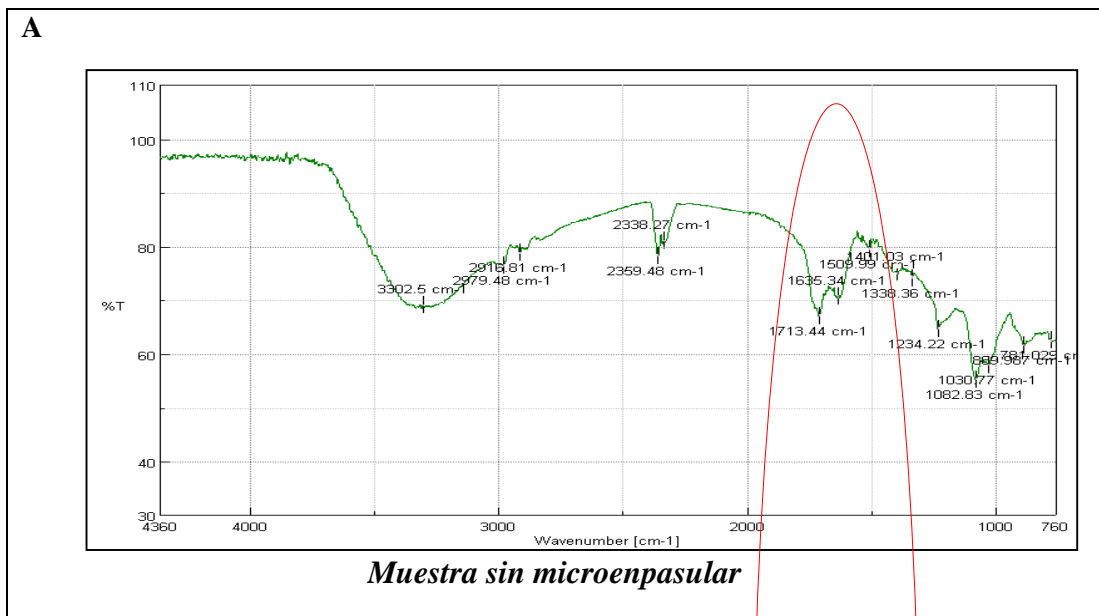
3.1.5. Espectroscopia Infrarroja FT-IR

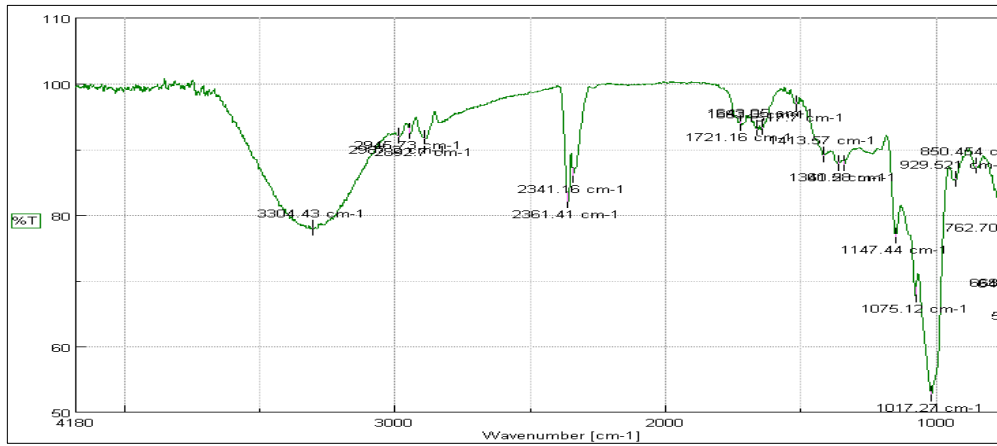
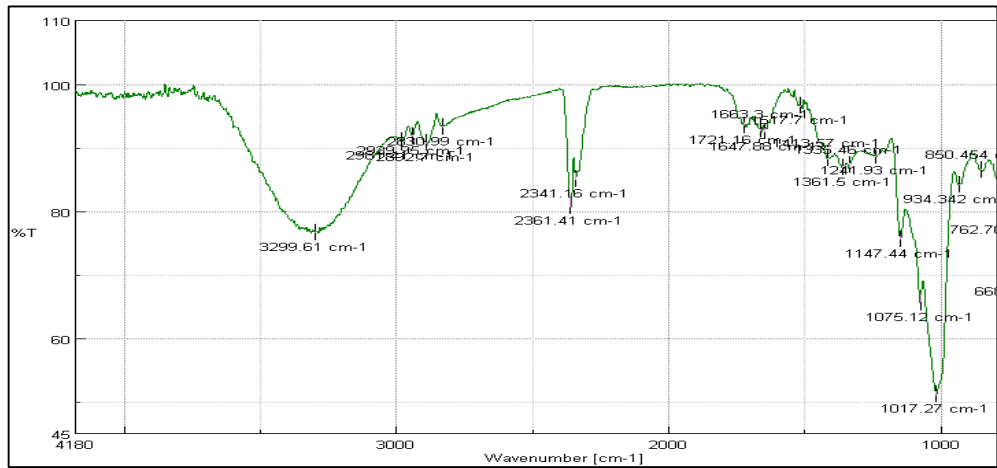
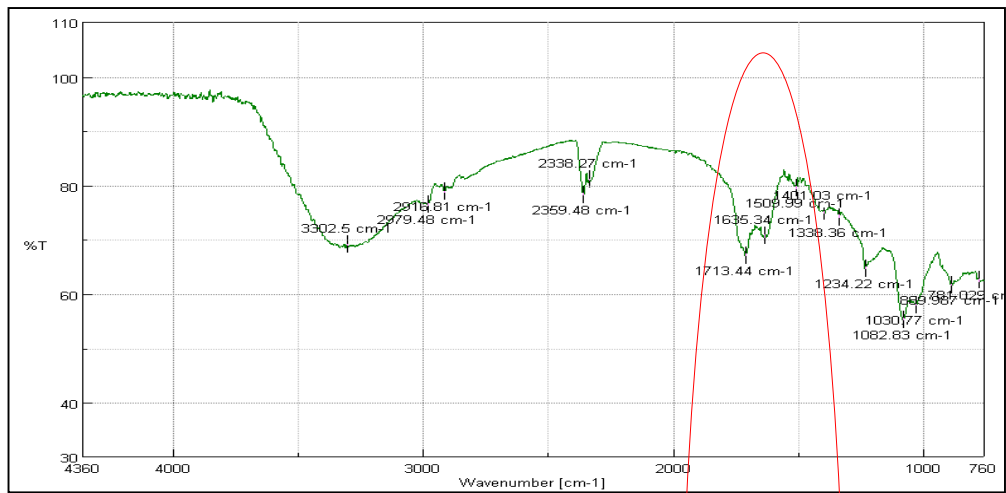
Ramírez, (2012) menciona que la espectroscopia infrarroja ha sido una técnica ampliamente utilizada en el ámbito industrial, una de sus primeras aplicaciones industriales estuvieron enfocadas principalmente al análisis químico. La FT-IR es una metodología instrumental que ha presentado un gran crecimiento durante los últimos

años y que muestra un amplio abanico de aplicaciones en diversas áreas. Representa una herramienta analítica importante en la industria de alimentos, química, bioquímica, médica y farmacéutica.

Su fundamento implica que un haz de luz al interactuar con un material biológico genera una respuesta en forma de radiación electromagnética formando ondas. Dichas ondas son generadas por los diferentes grupos químicos, lo que proporciona información importante sobre la composición química relacionada con la composición de la muestra en estudio (Acuna & Morphy, 2007).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, se realizó un análisis de espectroscopía infrarroja al extracto concentrado de antocianinas, al polímero y a cada uno de los microencapsulados con la finalidad de verificar que las microesferas contengan en su interior el metabolito de interés.



B*Microencapsulado con Maltodextrina***C***Microencapsulado con Maltodextrina y Goma Arábica***A***Muestra sin microencapsular*

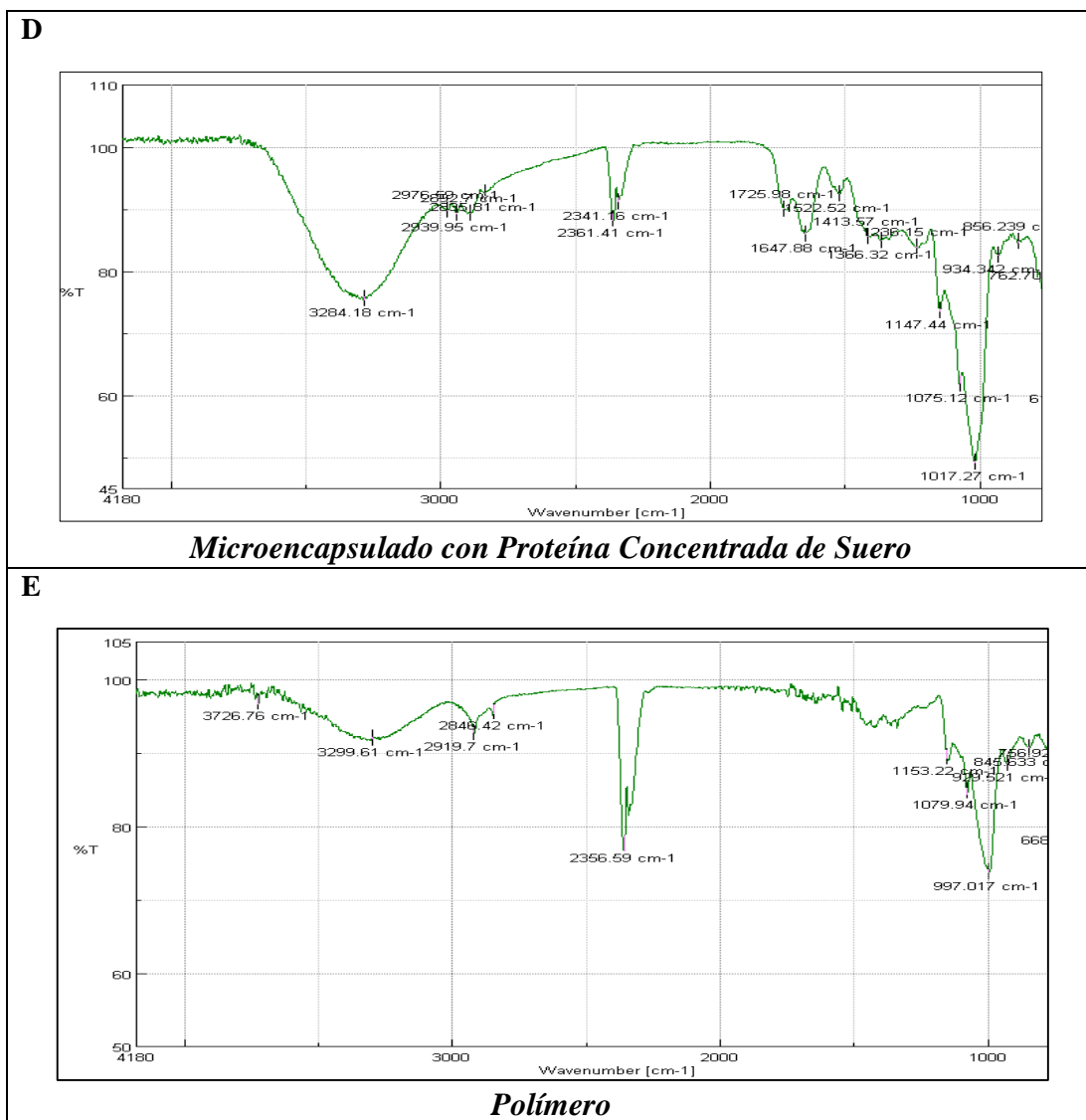


Figura 6. Comparación de los espectros FT-IR obtenidos del extracto de antocianinas con las muestras microencapsuladas y el polímero

En la figura 6 A) se observa el espectro de la muestra sin microencapsular, B) microencapsulado con Maltodextrina, C) Microencapsulado con Maltodextrina y Goma Arábica, D) Microencapsulado con Proteína Concentrada de Suero y E) polímero.

De acuerdo con **Barragán, (2017)** la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales en los espectros FT-IR que obedecen a diferentes frecuencias de vibración (cm^{-1}) sugieren una estructura similar a un flavonoide de tipo antocianina. Dentro de estos grupos se encuentran: C=O con frecuencias de vibración a $1850\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$, anillos aromáticos entre $1600\text{-}1475\text{ cm}^{-1}$ y la de -OH a $3600\text{ y }3200\text{ cm}^{-1}$.

Mediante el análisis espectroscópico realizado, en la figura 6 A) se puede observar con claridad las ondas generadas por las vibraciones electromagnéticas debido a la presencia de anillos fenólicos comprendidos entre 1713,44 y 1338,36 cm^{-1} . En la figura 6 B, C Y D se observan los espectros obtenidos de los microencapsulados que en comparación con el espectro del extracto rico en antocianinas las bandas características del grupo –OH de los polifenoles presentan menor intensidad, verificando de esta manera que las antocianinas se encuentran recubiertas por los agentes encapsulantes.

Además, en el espectro de microencapsulado con Maltodextrina las bandas correspondientes al grupo –OH de los polifenoles tienen menor intensidad comparado con los espectros de los microencapsulados con Maltodextrina-Goma Arábica y el de Proteína Concentrada de Suero, indicando que la Maltodextrina alcanzó un mayor porcentaje de eficiencia de microencapsulación.

3.1.6. Evaluación de la actividad antioxidante

El desarrollo y crecimiento de todos los organismos vivos puede llevarse a cabo de manera óptima bajo condiciones ambientales específicas tales como temperatura, humedad, salinidad, entre otras. El factor ambiental es crucial en la evolución de los organismos ya que permite a los mismos la selección de mecanismos para su adaptación y supervivencia frente a los cambios experimentados (Folch *et al.*, 2004).

Se realizó un ensayo de estrés oxidativo sobre levadura *Saccharomyces cerevisiae* para evaluar la capacidad que tienen los compuestos presentes en los microencapsulados para permitir el desarrollo y crecimiento de la levadura cuando es sometida a un estrés oxidativo utilizando peróxido de hidrogeno como promotor del mismo. En este ensayo se utilizaron dos controles, vitamina C como control positivo y un control negativo que comprende levadura sin ningún agente antioxidante.

Duran & Padilla, (1993) menciona que la vitamina C conocida también como ácido ascórbico ha sido reconocida como un antioxidante eficaz debido a su poder reductor de radicales libres evitando reacciones en cadena y daños en alimentos. Por otra parte, el peróxido de hidrogeno ha sido ampliamente utilizado en la determinación de la actividad antioxidante de extractos naturales actuando como agente oxidante (Justo, V. 2002).

A continuación, se muestran las curvas de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* y la respuesta frente al estrés oxidativo inducido con peróxido de hidrogeno.

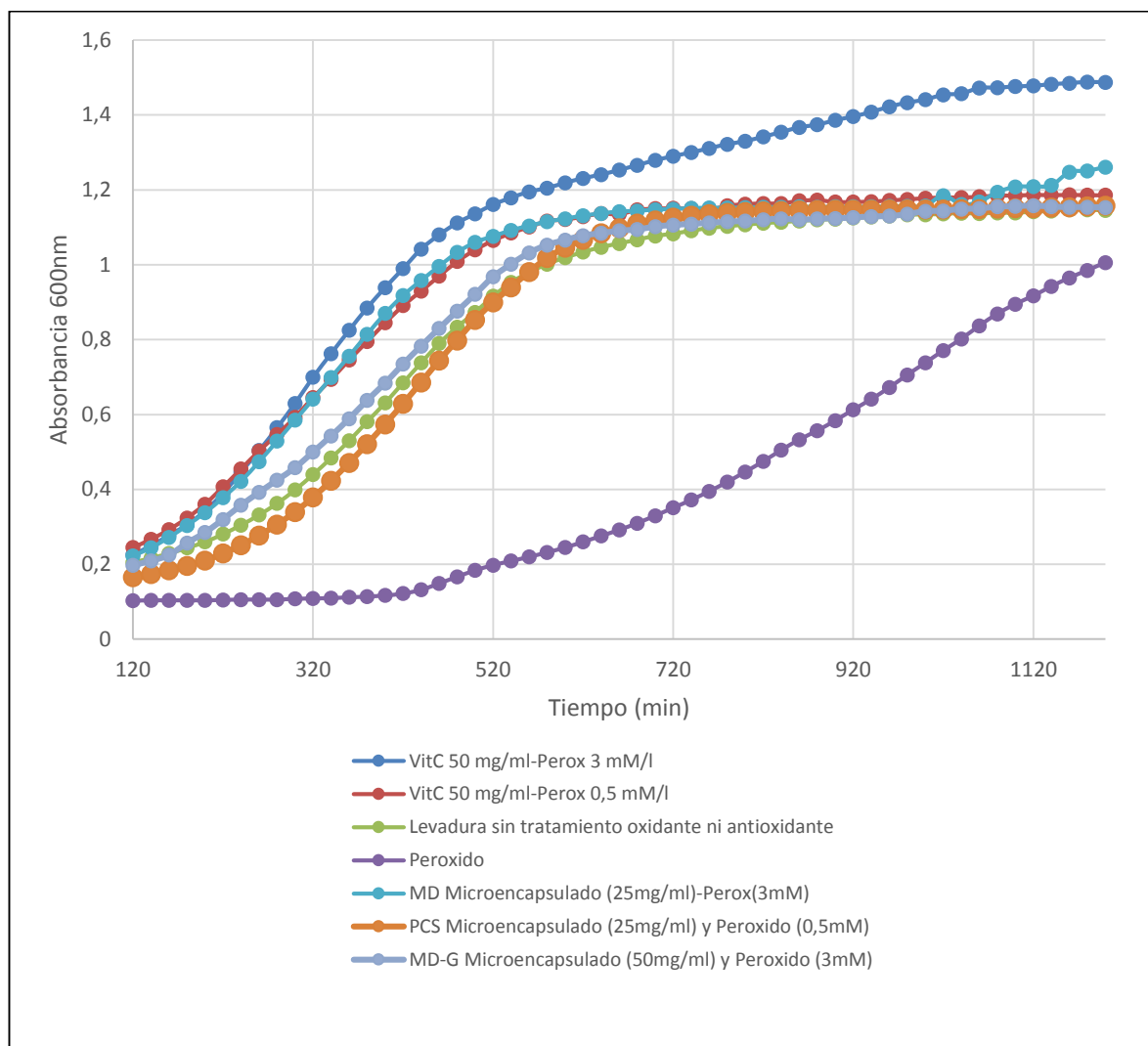


Figura 7. Actividad antioxidante determinada a través de las curvas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

En la figura 7 se muestran los perfiles de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* que se elaboraron utilizando las lecturas de absorbancias de cada muestra a una longitud de onda de 600 nm como una técnica para la determinación de biomasa con respecto al periodo de incubación. La turbidimetría es una técnica utilizada principalmente en el área de microbiología para estimar indicadores de crecimiento de microorganismos como alternativa a la técnica tradicional del recuento en placas, su fundamento se basa principalmente en la incidencia de luz a través de una muestra de un cultivo de microorganismos en un medio líquido, la luz absorbida por la muestra es

directamente proporcional a la concentración de celular presentes en el cultivo (**Acebo & Hernández, 2013**).

Se puede observar que el perfil de crecimiento (verde) de la muestra de levadura sin ningún tipo de tratamiento oxidante ni antioxidante corresponde al ciclo normal de crecimiento del microorganismo en estudio, esto debido a que el medio de cultivo utilizado YPD aporta los nutrientes necesarios para su desarrollo. Por otro lado, la muestra de levadura sometida a estrés oxidativo con peróxido de hidrogeno presenta un crecimiento deficiente, en este caso no supero el crecimiento celular alcanzado por la muestra de levadura sometida a estrés oxidativo con antioxidante (control positivo), no obstante existe crecimiento inicial pero conforme transcurre el tiempo la supervivencia de la levadura es mínima, pesar de que al ser un organismo eucariota posee enzimas dentro de su sistema intracelular tales como catalasas, peroxidadas y superóxido dismutasas como mecanismo de defensa para disminuir los daños provocados por la oxidación (**Moreno & Restrepo, 2015**).

El perfil de crecimiento de la levadura inoculada con microencapsulado de Maltodextrina y sometida a estrés oxidativo muestra un crecimiento similar al del control positivo, esto se explica ya que las microesferas al poseer compuestos fenólicos como las antocianinas proporcionan una barrera protectora a la levadura frente al peróxido de hidrogeno como agente oxidante alcanzando un punto máximo de absorbancia de 1,301.

En lo que se refiere a los perfiles de crecimiento de las muestras de levadura inoculada con microencapsulado de Proteína Concentrada de Suero y con microencapsulado de Maltodextrina y Goma Arabiga sometidas a estrés oxidativo mostraron un crecimiento similar al del control positivo, sin embargo el tiempo en alcanzar la fase exponencial de crecimiento celular fue mayor comparado con el de la muestra inoculada con microencapsulado de Maltodextrina, comprobando de esta manera que las microesferas obtenidas a partir de antocianinas extraídas de papa morada variedad Yana Shungo utilizando Maltodextrina como agente encapsulante poseen mayor concentración de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, cuestión que se atribuye al alto porcentaje en la eficiencia de microencapsulación obtenida con este polímero.

3.1.7. Verificación de la hipótesis

Mediante el análisis de los datos obtenidos en el ensayo realizado para la determinación de actividad antioxidante in vivo

$H_0 \neq 0$ Se rechaza la hipótesis nula

$H_a = 0$ Se acepta la hipótesis alternativa por lo tanto las antocianinas extraídas a partir de papa morada variedad Yana Shungo y microencapsuladas con los diferentes polímeros utilizados tienen actividad antioxidante.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Se caracterizó físico-químicamente las unidades de papa morada utilizadas como material vegetal, entre las características físicas se determinó el peso y tamaño del tubérculo. El tubérculo presentó un peso de $268,15 \pm 55,24$ g y un tamaño de $10,50 \pm 1,29$ cm de diámetro longitudinal y $6,72 \pm 0,38$ cm de

diámetro ecuatorial. Las características químicas fueron determinadas una vez obtenido los extractos vegetales ricos en antocianinas, se obtuvo un porcentaje de humedad de 70,17 % y un 29,83 % de contenido de sólidos totales.

- Se evaluaron las microcápsulas obtenidas mediante espectroscopia infrarroja con la finalidad de determinar la presencia de las antocianinas en el interior de las mismas. A través de los espectros obtenidos de cada microencapsulado y de las vibraciones electromagnéticas que se generaron en cada uno se comprobó la presencia de anillos fenólicos característicos de una estructura de tipo antocianina comprendidos entre 1713,44 y 1338,36 cm^{-1} .
- Se determinó la capacidad de microencapsulación de cada polímero utilizado como agente encapsulante a través de la eficiencia de microencapsulación. Se obtuvieron valores de eficiencia de 92,62 % para la Maltodextrina siendo esta superior a los polímeros restantes cuyos valores de eficiencia fueron de 90,01 % y 89,73 % para la mezcla polimérica de Maltodextrina y Goma arábiga y para la Proteína concentrada de Suero lácteo respectivamente.
- Se evaluó la actividad antioxidante *in vivo* de los microencapsulados obtenidos, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como organismo modelo. Mediante la comparación de los perfiles de crecimiento de las muestras inoculadas con levadura y microencapsulado y las curvas de crecimiento tanto del control positivo Vitamina C como del control negativo peróxido de hidrogeno se demostró que todos los microencapsulados de antocianinas presentan actividad antioxidante al estar sometidos a estrés oxidativo. Las tres muestras inoculadas con levadura y microencapsulado presentaron perfiles de crecimiento similares, logrando adaptarse y desarrollarse ante las condiciones expuestas. Sin embargo, la levadura alcanzó un mayor crecimiento en menor tiempo al estar inoculada con el microencapsulado de Maltodextrina.

4.2. RECOMENDACIONES

- Realizar otros ensayos *in vitro* e *in vivo* para corroborar el efecto antioxidante de los microencapsulados obtenidos.

5. BIBLIOGRAFIA

Abdel-Aal, M., & Hucl, P. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. *Journal of Cereal Chemistry*, 73(C), 350–354.

Acebo, D., & Hernandez, A. (2013). Los metodos turbidimetricos y sus aplicaciones en las ciencias de la vida. Cuba. 44(1). Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181226886003>

Acuna, M & Morphy, G. (2007). Uso de espectroscopia infrarroja y analisis multivariado para predecir la densidad de la madera de pino oregon. Chile.

28(3). 187-197. Retrieved from
https://www.redalyc.org/pdf/1731/173113292002.pdf?fbclid=IwAR2i9XThe7z84QttA7Y1H4U6wh5pY8Utp3Y0DvITEyIAd8crNZuMPwhI_Bs

Ahmed, M., Akter, S., Lee, J., & Eun, J. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT-Food Science and Technology*. 43(1). 1307-1312.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.014>

Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum spp.*), variedades Puca-shungo y Yana-shungo. Retrieved from
<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27504/3/BQ%20145.pdf>

Andrade, H., Bastidas, O., & Sherwood, S. (2002). El cultivo de la papa en Ecuador. Quito-Ecuador. INIAP. 20-30. Retrieved from
<http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2803/1/iniapsc190c1.pdf>

Andre, C. M., Oufir, M., Guignard, C., Hoffmann, L., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant Profiling of Native Andean Potato Tubers (*Solanum tuberosum L.*) Reveals cultivars with high levels of β -carotene, α -tocopherol, chlorogenic acid, and petanin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (1). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18044831>

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. Retrieved from <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>

Balladares, V. (2018). Evaluación del contenido de antocianinas y micronutrientes (hierro, magnesio y calcio) en papas nativas (*Solanum andigena*) enteras y peladas de las variedades Puca Shungo, Yana Shungo y Yema de huevo. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27787/1/AL%20674.pdf>

- Barragan, M. (2017). Evaluacion y caracterizacion de compuestos bioactivos del mio-mio (*Coriaria ruscifolia* L) por espectroscopia FTIR y HPLC. Puno-Peru. Retrieved from http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/7772/Melquiades_Barragan_Condori.pdf?sequence=1&isAllowed=y&fbclid=IwAR2jG_-RJRJVMGx0YCALnz52P-Ntax7jbhV8DdeNjUUH8UMxDnzbfmgnFSs
- Bianeth Peña, C., & Patricia Restrepo, L. (2013). *Phenolic Compounds and Carotenoids in Potatoes-Revision*. Retrieved from http://www.revistasan.org.ar/pdf_files/trabajos/vol_14/num_1/RSAN_14_1_25.pdf?fbclid=IwAR3Ab1yHFT2Zddzpso_Zi7ctf37UgWkD6Ku-YZkhlp7BpVuRQDsc2SgwYTU
- Brown, C., Durst, W., & Clevidence. (2003). Breeding studies in potatoes containing high concentrations of anthocyanins. *American Journal of Potato Research*. 80(4). 241-249. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02855360>.
- Cardona, E.M., Ríos, L. A., & Restrepo, G. M. (2006). Extraction of the carotenoid lycopene from chonto tomato (*lycopersicum esculentum*). *Vitae*, 13(53), 44-53.
- Duran, M & Padilla, R. (1993). Actividad antioxidante de las vitaminas C y E. Sevilla-España. 44(2). Retrieved from file:///C:/Users/kelly_000/Downloads/1106-1111-1-PB%20(1).pdf
- Ferrari, C., Germer, S., & Aguirre, J. (2012). Effects of Spray-Drying Conditions on the Physicochemical Properties of Blackberry Powder. *Drying Technology an International Journal*. 30(2). 154-163. <https://doi.org/10.1080/07373937.2011.628429>

- Folch, J., Arroyo, A., Lledias, F., & Covarrubias, A. (2004). La respuesta a estrés en Levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 46(1). 24-26. Retrieved from https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2004/mi04-1_2d.pdf?fbclid=IwAR3gChk5Qk52tOizuEI44m1aDCX7cbmJxEPdUV_y_zJklBwmsuxUZac7dyg
- Garzón, G. A. (2008). *Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds*. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf?fbclid=IwAR2wvc3lf59PJwXYr0jhldfSmft_rmGOC_njLBVXs9TA48lxcwiJvEWwQEg
- Gómez, R. (2000). Guía para las caracterizaciones morfológicas básicas en colecciones de papa. Lima: Centro Internacional de la Papa.
- Guerrero, C., Andrade, M., Pillajo, G., & Hernández, A. (2015). Efecto de la cocción sobre la composición química y capacidad antioxidante de papas nativas (*Solanum tuberosum*) del Ecuador. 2(2). 20-25. Retrieved from http://www.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestabilidad/index.php/revista/article/viewFile/18/34?fbclid=IwAR2SD3mVye_00RaKsSLg7P1_R4GMbevPIB_87PhrN-tLyy5K4EiFwBHedcg
- Hasbún, P & Brenes, I. (2009). Propiedades físico químicas y parámetros de calidad para uso industrial de cuatro variedades de papa. 33 (1). Retrieved from https://www.mag.go.cr/rev_agr/v33n01-077.pdf
- Jiménez, C., Flores, C., & Giusti, M. (2009). Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. Lima-Peru. 75(1). Retrieved from http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n1/a10v75n1.pdf?fbclid=IwAR20I8pntJKyXAKu2Um-nQNvnFHU0mleQ8I1SLj1ZOldqPfVDZUrDBTK_IY

- Justo, V. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. 31 (2). Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research*, 61(1), 1361779. doi:10.1080/16546628.2017.1361779
- Lachman, J. (2008). Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114(3), 836–843. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.029
- Lopez, L., Oliart, R., Alfaro, G., Lee, C., Parkin, K., & Garcia, H. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT- Food Science and Technology*. 42(1). 1187-1192.
- Martínez, F. (2009). Caracterización morfológica e inventario de conocimientos colectivos de variedades de papas nativas (*Solanum Tuberosum* L.) en la provincia de Chimborazo. (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador.
- Matiacevich, S., & Sáez, C. (2017). Encapsulation of lemongrass essential oil in the development of powdered natural ingredients for food preservation. *Universidad de Santiago de Chile*. 42(2). 23-31. Retrieved from <http://revistas.usach.cl/ojs/index.php/contribuciones/article/view/3190/2911?fbclid=IwAR24JdhG8urM9Lakz7vrrNoinzFgKbXQY1rHoLKpn9JhAL1-IiHjm3DZM1I>
- Mondragón, R., Barba, A., & Jarque, J. (2013). El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. 52(4). 159-168. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/61429024.pdf?fbclid=IwAR0p021iVG9jl-kTaxxNbVPudw-UDU41045-5Vgt6TaPzkajExj1vWsY5o8>

- Monteros, C., Yumisaca, F., Tello, C., Reinoso, I., Garófalo, J., Andrade-piedra, J., & Cuesta, X. (2011). Ficha técnica de la variedad de papa iniap – yana shungo 1. *INIAP*, 1–13.
- Monteros, C., & Reinoso, I. (2010). Biodiversidad y oportunidades de Mercado para papas nativas ecuatorianas. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones agropecuarias (INIAP). Quito-Ecuador. 8-11.
- Monteros, C., Cuesta, J., & López, G. (2005). Las papas nativas en el Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones agropecuarias (INIAP). Quito-Ecuador. 9-20.
- Moreno, E., Ortiz, B. L., & Restrepo, L. P. (2015). *Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. Revista Colombiana de Química*, 43(3), 41–48. doi:10.15446/rev.colomb.quim.v43n3.53615
- Moser, J. (2017). *Spray Drying Technology Volume One*, 1-46. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1990.tb02754.x>
- Pajaro, P., Mendez, G., Osorio, M., Torrenegra, M., & Vega, J. (2017). Microencapsulation of *Cinnamomum verum* J. essential oil by spray drying and its potential activity. *Revista Cubana de Farmacia*. 51(2). 20-32. Retrieved from <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/227/133?fbclid=IwAR1Wf9BLa0P95YOhTaH5ew6ze-UnZO0aer1-NweoksiYyr4-AOPconQtqxE>
- Peláez Soto, A., & Patricia Roig Montoya José Vicente Gil Ponce Valencia, D. (2016). *VALIDACIÓN FUNCIONAL DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CACAO MEDIANTE ENSAYOS IN VIVO CON ORGANISMOS MODELO*.
- Pumisacho, M., & Velasquez, J. (2009). Manual de cultivo de papa para pequeños productores. Quito-Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/840/4/iniapscm78.pdf>

Sun, X., Cameron, R., & Bai, J. (2019). Microencapsulation and antimicrobial activity of carvacrol in a pectin-alginate matrix. *Food Hydrocolloids Journal*. 92(1). 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.006>

Untuña, P. (2013). Estudio del efecto de la fritura al vacío sobre los atributos de calidad de chips de papa nativa. (Tesis de pregrado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador.

Villacrés E., Quilca N., Muñoz R., Monteros C. & Reinoso. I. (2005). Caracterización física, nutricional y funcional de papas nativas (*Solanum tuberosum* ssp.) para orientar sus usos en Ecuador. *Revista Latinoamericana de la Papa*. 15(1):52-54

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de la pueba de multiples rangos de concentracion de antocianinas de cada polimero utilizado

Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
PCS	6	0,49163 6	X
MD Y GOMA	6	1,12003	X
MD	6	1,17349	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MD - MD Y GOMA		0,0534627	1,10798
MD - PCS		0,681853	1,10798
MD Y GOMA - PCS		0,628391	1,10798

* indica una diferencia significativa.

<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	1,72531	2	0,862657	1,06	0,3697
Intra grupos	12,1598	15	0,810655		
Total (Corr.)	13,8851	17			

Anexo 2. Tabla de la prueba de múltiples rangos de eficiencia de microencapsulación de cada polímero utilizado

Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
PCS	3	89,9367	X
MD Y GOMA	3	90,01	X
MD	3	92,6167	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MD - MD Y GOMA	*	2,60667	0,847925
MD - PCS	*	2,68	0,847925
MD Y GOMA - PCS		0,0733333	0,847925

* indica una diferencia significativa.

<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	13,9825	2	6,99124	38,81	0,0004
Intra grupos	1,08073	6	0,180122		
Total (Corr.)	15,0632	8			

Anexo 3. Porcentajes de eficiencia de microencapsulación de cada polímero utilizado

	Dil 1/100	Abs	Concentracion [mg/L]	Concentracion [mg/vf]	%E.E
PCS	H₂O	0,302	0,870389627	0,013055844	89,94
		0,311	0,896328391	0,013444926	
		0,317	0,9136209	0,013704313	
	EtOH	0,0325	0,093667758	0,001405016	
		0,0296	0,085309712	0,001279646	
		0,0314	0,090497465	0,001357462	
MD	H₂O	0,764	2,201912831	0,033028692	92,62
		0,753	2,170209898	0,032553148	
		0,758	2,184620322	0,032769305	
	EtOH	0,0571	0,164567045	0,002468506	
		0,0545	0,157073625	0,002356104	
		0,0564	0,162549586	0,002438244	
MD + G	H₂O	0,715	2,060690673	0,03091036	90,01
		0,694	2,000166891	0,030002503	
		0,711	2,049162334	0,030737435	
	EtOH	0,0687	0,19799923	0,002969988	
		0,0698	0,201169523	0,003017543	
		0,0732	0,210968612	0,003164529	