



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
Y BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

---

**Tema:** Evaluación de la vida útil de microencapsulados de carotenoides provenientes de desechos agroindustriales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en la provincia de Tungurahua

---

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

**AUTORA:** Caroline Estefanía Silva Manjarres

**TUTORA:** MSc. Danae Fernández Rivero

**Ambato – Ecuador**

**Septiembre - 2023**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

### **CERTIFICA:**

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

Ambato, 21 de julio del 2023

---

Lic. MSc. Danae Fernández Rivero

**C.I. 175781209**

**TUTORA**

## **AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Caroline Estefanía Silva Manjarres, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son totalmente absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Caroline Estefanía Silva Manjarres

**C.I. 1805278395**

**AUTORA**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, 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.



Caroline Estefanía Silva Manjarres

**C.I. 1805278395**

**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 en 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

---

Dr. Pablo Vinicio Tuza Alvarado

C.I.:1104063241

---

Mg. Juan de Dios Espinoza Moya

C.I.:1803201431

Ambato, 22 de agosto del 2023

## **DEDICATORIA**

*A Dios por darme la fuerza necesaria para continuar día tras día en los mejores y  
más aún en los peores momentos de mi vida.*

*A mi mami Rocío por haber hecho de mí una mujer fuerte y decidida a cumplir mis  
propósitos, por ayudarme a llegar hasta el fin de esta bonita etapa. No me va a  
alcanzar la vida para pagarle todo lo que ha hecho por mí y este logro es gracias a  
ella. Mi corazón siempre vivirá inmensamente agradecido por la mamá tan fuerte  
que me tocó.*

*A mi abuelito Gabriel, quien ha sido mi papá y el encargado de guiarme por el buen  
camino para verme llegar hasta aquí. A mi abuelita Bertha y tía Verónica por ser  
mis segundas mamás.*

*A mi pequeña Danna Paula quién me ha enseñado el valor de la persistencia y el  
amor incondicional. Este logro también se lo dedico a mi hermano Oscar por  
siempre estar presente en mi vida.*

*A la hermana que me dio la vida, Irene, gracias morita por haber estado cuando no  
tenía a nadie más. Tus palabras, consejos y bromas ayudaron a que hoy esté  
agradeciéndote por haber entrado a mi vida y dejarme compartir un poquito de la  
tuya.*

*Y finalmente para el ángel más bonito que tengo en el cielo.*

**Caroline Estefanía Silva Manjarres**

## AGRADECIMIENTO

*Primeramente, a Dios por permitirme llegar hasta este momento tan importante para mí con su bendición para culminar una meta más de mi vida.*

*A toda mi familia quienes con sus palabras y acciones muchas veces me han reconfortado: Mami Rocío, Erika, Michi, Liss, Cris, Erick, Yajita, Je, Juli, Giane y a todos mis tíos.*

*A mi tutora, MSc. Danae Fernández Rivero quién me ha guiado de la manera más amable y comprometida a lo largo de la elaboración de este proyecto.*

*Al Doc. Orestes López por su ayuda y paciencia incondicional ante cualquier duda para enriquecer mis conocimientos. A mis docentes el Mg. Juan de Dios Espinoza por su ayuda para la realización de la parte estadística del presente proyecto y al Doc. Pablo Tuza por sus consejos, muchas gracias.*

*A la Universidad Técnica de Ambato y en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por la formación académica que me brindó.*

*Ahora la parte más larga de mis agradecimientos va dirigida a la familia que escogí al momento de ingresar a la Universidad y quienes me han mostrado muchas formas de ver la vida desde diferentes perspectivas, deseo que donde vayan la vida se encargue de premiarles inmensamente y gracias, por tanto: Irene, Ketsi, Gaby, Liss, Washo, Angela, Marlon, Mishu, Erick, Geo, Víctor, Grace, Vivi, Moresita, Taty, Dari, Wendy, Jenny.*

*A Cristian por todas las veces que me ha brindado su ayuda para llegar hasta aquí, por escucharme, por aconsejarme y por nunca dejarme sola cuando atravesamos nuestro momento más difícil. Finalizar esta etapa tan bonita de tu mano ha sido una de las experiencias que más aprendizajes me ha dejado, gracias por estar.*

*Gracias infinitas a todos por hacerme parte de su vida y compartir un poquito de sus sueños, experiencias y metas conmigo.*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN EJECUTIVO .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.    Antecedentes Investigativos .....	1
1.1.1.    Generalidades del tomate de árbol ( <i>Solanum betaceum</i> ) .....	1
1.1.2.    Actividad antioxidante .....	4
1.1.3.    Extracción de carotenoides .....	5
1.1.4.    Microencapsulación .....	6
1.1.5.    Estabilidad.....	9
1.2.    Objetivos.....	13
1.2.1.    Objetivo general.....	13
1.2.2.    Objetivos específicos .....	13
CAPÍTULO II .....	14
METODOLOGÍA .....	14
2.1.    Materiales .....	14
2.2.    Métodos .....	16
2.2.1.    Extracción de carotenoides provenientes de residuos agroindustriales de tomate de árbol a escala de laboratorio.....	16



2.2.2.	Análisis del comportamiento a través del tiempo de los indicadores físicoquímicos del extracto y de los microencapsulados de carotenoides .....	19
2.2.3.	Determinación del tiempo de vida útil del extracto y de los microencapsulados de carotenoides a través del paquete estadístico Minitab....	22
CAPÍTULO III .....		23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		23
3.1.	Análisis y discusión de resultados.....	23
3.1.1.	Obtención de los extractos y microencapsulados de carotenoides provenientes de desechos agroindustriales a nivel de laboratorio .....	23
3.1.2.	Caracterización físicoquímica a través del tiempo de los extractos vegetales y de los microencapsulados de carotenoides obtenidos.....	27
3.1.3.	Determinación del tiempo de vida útil para el extracto y para los microencapsulados.....	41
CAPÍTULO IV .....		47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		47
4.1.	Conclusiones.....	47
4.2.	Recomendaciones .....	48
MATERIALES DE REFERENCIA .....		49
ANEXOS.....		60

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de <i>S. betaceum</i> . .....	1
<b>Tabla 2.</b> Contenido de licopeno en diferentes frutas / vegetales. ....	4
<b>Tabla 3.</b> Equipos de laboratorio. ....	14
<b>Tabla 4.</b> Reactivos de laboratorio. ....	15
<b>Tabla 5.</b> Materiales de laboratorio. ....	15
<b>Tabla 6.</b> Materiales de escritorio. ....	15
<b>Tabla 7.</b> Obtención del volumen final del extracto. ....	23
<b>Tabla 8.</b> Concentración de carotenoides presentes en el extracto. ....	24
<b>Tabla 9.</b> Eficiencia de extracción. ....	24
<b>Tabla 10.</b> Eficiencia de microencapsulación. ....	26
<b>Tabla 11.</b> Resultados para la actividad antioxidante del extracto y del microencapsulado. ....	36
<b>Tabla 12.</b> IC para el extracto de carotenoides. ....	45
<b>Tabla 13.</b> IC para microencapsulados elaborados en el año 2021. ....	46
<b>Tabla 14.</b> IC para microencapsulados elaborados en el año 2023. ....	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura del licopeno. ....	4
<b>Figura 2.</b> Comparación de las medias con relación a los sólidos solubles obtenidos. ....	29
<b>Figura 3.</b> Comparación de medias con respecto al pH del extracto. ....	30
<b>Figura 4.</b> Comparación de medias con respecto a la concentración de carotenoides. ....	31
<b>Figura 5.</b> Comparación de medias con respecto al pH del microencapsulado año 2023. ....	32
<b>Figura 6.</b> Comparación de medias con respecto al pH del microencapsulado año 2021. ....	33
<b>Figura 7.</b> Comparación de medias con respecto a la humedad del microencapsulado año 2023. ....	34
<b>Figura 8.</b> Comparación de medias con respecto a la humedad del microencapsulado año 2021. ....	35

<b>Figura 9.</b> Espectros de resonancia infrarroja obtenidos para el extracto concentrado de carotenoides sin microencapsular. ....	37
<b>Figura 10.</b> Mezcla polimérica conformada por goma arábica/ maltodextrina. ....	38
<b>Figura 11.</b> Espectros de infrarrojo para los microencapsulados elaborados en el año 2021.....	39
<b>Figura 12.</b> Espectros de infrarrojo para los microencapsulados elaborados en el año 2023.....	40
<b>Figura 13.</b> Pronóstico de vida útil para los extractos de carotenoides .....	42
<b>Figura 14.</b> Pronóstico de vida útil con respecto a la humedad de los lotes de microencapsulados producidos en el año 2021 y 2023.....	44
<b>Figura 15.</b> Pronóstico de vida útil con respecto al pH de los lotes de microencapsulados producidos en el año 2021 y 2023.....	45

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Rendimiento de la microencapsulación.....	60
<b>Anexo 2.</b> Eficiencia de microencapsulación Lote 1 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.....	60
<b>Anexo 3.</b> Eficiencia de microencapsulación Lote 2 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.....	60
<b>Anexo 4.</b> Eficiencia de microencapsulación Lote 3 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.....	61
<b>Anexo 5.</b> Tabla de la evaluación de la cantidad de SST presentes en los extractos. .	61
<b>Anexo 6.</b> Tabla ANOVA para la humedad y SST de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo. ....	61
<b>Anexo 7.</b> Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo.....	62
<b>Anexo 8.</b> Tabla ANOVA para la concentración de carotenoides de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo.....	62
<b>Anexo 9.</b> Tabla de los análisis fisicoquímicos de los lotes de microencapsulados del año 2023.....	62
<b>Anexo 10.</b> Tabla de los análisis fisicoquímicos de los lotes de microencapsulados del año 2021.....	63

<b>Anexo 11.</b> Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de microencapsulados año 2023. .....	63
<b>Anexo 12.</b> Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de microencapsulados año 2021. .....	63
<b>Anexo 13.</b> Tabla ANOVA para la humedad de los 3 lotes de microencapsulados año 2023.....	63
<b>Anexo 14.</b> Tabla ANOVA para la humedad de los 3 lotes de microencapsulados año 2021.....	64
<b>Anexo 15.</b> Curva de calibración de Trolox en intervalo de 50 – 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .	64
<b>Anexo 16.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % los SST en el extracto de carotenoides.....	64
<b>Anexo 17.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH en el extracto de carotenoides.....	64
<b>Anexo 18.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % para la concentración de carotenoides del extracto.....	64
<b>Anexo 19.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 para el porcentaje de humedad de los microencapsulados del año 2021.....	65
<b>Anexo 20.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH de los microencapsulados del año 2021. ....	65
<b>Anexo 21.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el porcentaje de humedad de los microencapsulados del año 2023.....	65
<b>Anexo 22.</b> Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH de los microencapsulados del año 2021. ....	65

## RESUMEN EJECUTIVO

En la actualidad se genera una gran cantidad de desechos agroindustriales (cáscaras) de tomate de árbol. En las cáscaras se presentan compuestos de interés como los carotenoides, que son fuente de provitamina A y poseen actividad antioxidante. Por este motivo su estudio se ha incrementado para tratar diferentes afecciones.

Se realizaron tres lotes de extracto con una concentración de 0,62 miligramos sobre litro y la eficiencia de extracción fue de 16,84 miligramos sobre kilogramo. Se elaboró el microencapsulado con extracto concentrado, polímeros y agua destilada utilizando el equipo mini Spray Dryer, La eficiencia de microencapsulación fue de 95 por ciento y el porcentaje de rendimiento de 64,87. La caracterización fisicoquímica del extracto se realizó durante 15 días, empleando una balanza de humedad se obtuvo una cantidad de SST entre 1,90 y 1,43 por ciento, pH de 4,63 y concentración de carotenos entre 0,56 y 0,66 miligramos sobre litro. La caracterización de los microencapsulados fue evaluada durante 30 días para tres lotes generados, teniendo un pH de 4,29 y porcentaje de humedad menor a 3. La actividad antioxidante arrojó valores de 40,03 y 38 por ciento de inhibición del DPPH del extracto y del microencapsulado respectivamente, equivalentes a 223,09 y 211,836 micro mol sobre litro de Trolox. El pronóstico de vida útil fue de 37 días para los extractos y de 74 días para los microencapsulados.

La presente investigación extrajo carotenoides provenientes de desechos agroindustriales y los preservó utilizando microencapsulación, realizando ensayos de caracterización fisicoquímica para verificar la estabilidad de ambos.

**Palabras claves:** vida útil de microencapsulados, extractos vegetales, carotenoides, microencapsulación, actividad antioxidante

## ABSTRACT

Currently, a large amount of agro-industrial waste (peels) of tree tomatoes is generated. The peels contain compounds of interest such as carotenoids, which are a source of provitamin A and have antioxidant activity. For this reason, their study has increased to treat different conditions.

Three batches of extract were made with a concentration of 0.62 milligrams per liter and the extraction efficiency was 16.84 milligrams per kilogram. The microencapsulation was prepared with concentrated extract, polymers and distilled water using the mini-Spray Dryer equipment. The microencapsulation efficiency was 95 percent, and the yield percentage was 64.87. The physicochemical characterization of the extract was carried out for 15 days, using a moisture balance, the TSS was between 1.90 and 1.43 percent, pH was 4.63 and carotene concentration was between 0.56 and 0.66 milligrams per liter. The characterization of the microencapsulates was evaluated for 30 days for three batches generated, having a pH of 4.29 and a moisture percentage of less than 3. The antioxidant activity yielded values of 40.03 and 38 percent inhibition of DPPH of the extract and the microencapsulates, respectively, equivalent to 223.09 and 211.836 micro mol per liter of Trolox. The predicted shelf life was 37 days for the extracts and 74 days for the microencapsulates.

The present research extracted carotenoids from agroindustrial wastes and preserved them using microencapsulation, performing physicochemical characterization tests to verify the stability of both.

**Keywords:** shelf life of microencapsulates, plant extracts, carotenoids, microencapsulation, antioxidant activity

# CAPITULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. Generalidades del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

##### 1.1.1.1. Taxonomía

El tomate de árbol, tamarillo, tomate andino o también conocido con el nombre de sachatomate es un fruto proveniente de la región de los Andes que pertenece a la familia de las Solanáceas. Dentro de la **Tabla 1** se presentan las principales características de *S. betaceum* con respecto a su taxonomía.

**Tabla 1.** Taxonomía de *S. betaceum*.

Categoría taxonómica	
Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida (dicotyledoneae)
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Betaceum</i>

**Fuente:** (Royal Botanic Gardens, 2013).

##### 1.1.1.2. Descripción botánica

La planta de tomate de árbol puede medir entre 2 a 3,5 metros de altura. Su tronco es de tipo leñoso y ramificado, de color marrón. Las hojas grandes y ovaladas de la planta están dispuestas de forma intercalada a lo largo de ella, poseen bordes dentados y una textura ligeramente rugosa. Las hojas presentan una coloración verde y miden entre 10 y 25 centímetros de largo. Las flores se agrupan en forma de racimo, son pequeñas y miden entre 1,3 y 1,5 centímetros. Su coloración es blanca-rosada (**Sepúlveda & Zapata, 2019**).

El tamaño del fruto puede ir de 5 a 7 centímetros de longitud, tiene forma ovoide y son de color amarillo verdoso, rojo o anaranjado. La piel es suave y fina, mientras que, la pulpa es jugosa y tiene un sabor equilibrado entre dulce y un poco ácido. Además, hay

muchas semillas en el interior del fruto que son de color marrón claro (**Ecograins, 2017**).

### **1.1.1.3. Producción de tomate de árbol**

El tomate de árbol es originario de las regiones andinas de América del Sur, se deben tener en cuenta ciertas condiciones para producir este fruto, entre ellas están:

- **Clima:** la temperatura ideal se encuentra en un rango de 15°C a 25°C, se deben evitar temperaturas muy altas o bajas, ya que pueden dañar a la planta.
- **Altitud:** la planta puede desarrollarse mejor en altitudes de 100 a 2500 metros de altura sobre el nivel del mar.
- **Luz:** se requiere al menos 6 horas al día de exposición a la luz solar para generar un crecimiento adecuado.
- **Suelo:** el crecimiento óptimo se genera en suelos drenados y ricos en materia orgánica, el pH óptimo debe estar entre 5,5 y 7,0. Si el suelo cuenta con la presencia de materia orgánica asegura la fertilidad y capacidad de retención de agua.
- **Humedad:** la planta necesita un ambiente húmedo para crecer, pero se debe evitar el exceso de humedad porque puede dar ocasionar enfermedades fúngicas. Para evitar el exceso de humedad se debe mantener un buen drenaje del suelo.

**(Marcial et al., 2023).**

Con las condiciones antes mencionadas según las estadísticas reportadas por el INEC, dentro del Ecuador, se tienen alrededor de 1420 hectáreas con plantaciones de tomate de árbol, un aproximado de 748 hectáreas cosechadas y una producción anual de alrededor de 12051 toneladas aproximadamente. Teniendo así que el 59.62 % del total de esta plantación a nivel nacional se encuentra dentro de la provincia de Tungurahua (**ESPAC, 2017**).

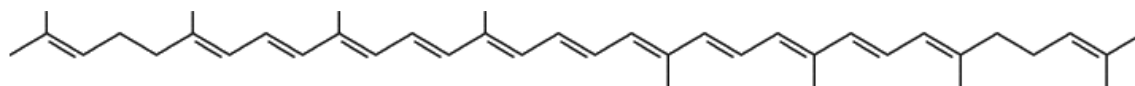


#### **1.1.1.4. Contenido nutricional**

Dentro de los principales componentes nutricionales que se encuentran conformando este fruto se puede mencionar a las vitaminas: A, B y C, teniendo en cuenta que el contenido presente de vitamina A es mucho mayor a las demás vitaminas. Esto se debe a la gran cantidad de carotenoides que presentan actividad de tipo provitamina A (**Gavilanes, 2022**). Dentro de la composición del tomate de árbol se tienen minerales como: calcio, hierro, fósforo, magnesio y potasio. Además, se tiene la presencia de carbohidratos, ácido gamma aminobutírico, polifenoles, antocianinas y carotenoides (**Ramirez, 2022**). Los carotenoides son compuestos de tipo químico que se encuentran por lo general en las cáscaras y semillas de los frutos, como es en el caso del tomate de árbol, estos son pigmentos de origen natural que presentan una estructura de ocho unidades de isopreno, liposolubles y son los encargados de otorgarle la coloración a los alimentos que los contienen (**Silva et al., 2019**).

Los carotenoides si son ingeridos en una cantidad adecuada o ideal pueden aportar varios beneficios a la salud como por ejemplo ayudando a disminuir el riesgo de adquirir enfermedades crónicas gracias a la actividad antioxidante que poseen. Entre estas enfermedades se tiene al cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, enfermedades relacionadas con la piel o huesos, trastornos hepáticos e incluso la enfermedad del Alzheimer (**Wu et al., 2020**). Algunos de los carotenoides que se encuentran con mayor frecuencia como la luteína y la zeaxantina pueden acumularse en la retina del ojo y protegerlo de la degeneración macular que se relaciona directamente con la edad, esta es una de las causas más comunes que produce ceguera en los adultos mayores (**Bian et al., 2012**).

Como un ejemplo de carotenoide se tiene al licopeno que presenta una estructura acíclica y es un isómero del betacaroteno (Figura 1).



**Figura 1.** Estructura del licopeno.

**Fuente:** Kwatra, (2020).

El licopeno es uno de los carotenoides que se encuentra con mayor presencia en ciertas frutas y vegetales, como se detalla en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Contenido de licopeno en diferentes frutas / vegetales.

Fruto / vegetal	Contenido (%)
Tomate de árbol	0,3 a 0,6
Sandía	0,1 a 0,2
Guayaba	0,05 a 0,15
Papaya	0,03 a 0,08
Zanahoria	0,01 a 0,03

**Fuente:** (Tierney et al., 2020).

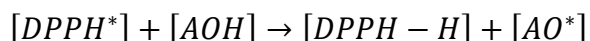
### 1.1.2. Actividad antioxidante

Los carotenos o carotenoides se caracterizan por poseer una importante actividad antioxidante, es decir, pueden ser capaces de neutralizar los radicales libres y prevenir el daño celular que se ocasiona debido al estrés oxidativo (**Abdalla, 2021**). Los radicales libres pueden ser los causantes de dañar el ADN y otras moléculas en las células (**Ketnawa et al., 2022**). Es importante señalar que el organismo humano como tal no es capaz de sintetizar carotenoides, por lo que estos deben obtenerse a través de la dieta diaria. Entre los carotenoides que mayormente se presentan en una dieta alimenticia se tienen al betacaroteno, luteína y zeaxantina (**Bin et al., 2022**).

Existen varios métodos para lograr medir la actividad antioxidante de una sustancia o de una muestra entre ellos se puede mencionar a los ensayos de:

- **DPPH:** también conocido con el nombre de método del ensayo de captación de radicales libres. Los análisis de cinética revelan que este fenómeno se produce a través de una reacción de primer orden, que puede ser monitoreada al medir la disminución de la absorbancia conforme va pasando el tiempo. Esta medida permite observar que en la fase inicial esta es sumamente rápida,

seguida por una fase más lenta. Esto podría deberse a la formación de dímeros a partir de los productos de las reacciones adicionales. La reacción generada entre el DPPH y un antioxidante se presenta de la siguiente manera:



- **FRAP:** también conocido con el nombre de método del ensayo de capacidad de reducción férrica. Esta prueba tiene su fundamento en la capacidad de reducir el catión férrico  $Fe^{3+}$  de la muestra a su forma ferrosa  $Fe^{2+}$ . La reducción se cuantifica a través de la formación de un complejo coloreado que puede ser medible espectrofotométricamente.
- **ORAC:** conocido con el nombre de método de capacidad de absorber el radical oxígeno. En este ensayo se mide la capacidad que posee la muestra para inhibir el oxígeno que se encuentra en un sustrato fluorescente ocasionado por un radical libre generador de más radicales libres (peróxido de hidrógeno). La disminución en la fluorescencia se registra a través de un intervalo de tiempo.

(Guija et al., 2015; Munteanu & Apetrei, 2021).

### 1.1.3. Extracción de carotenoides

Por lo general, la extracción de carotenoides es llevada a cabo empleando solventes orgánicos. Por lo general, el protocolo que se sigue para realizar la extracción es:

- Preparación de la matriz vegetal
- Selección del solvente
- Extracción
- Filtración
- Evaporación
- Purificación

Al momento de realizar la extracción de carotenoides empleando solventes se debe tener en cuenta que se puede llegar a necesitar el uso de equipos especiales y técnicas específicas para garantizar la calidad y seguridad del producto final al que se quiere llegar ( Diep et al., 2020). Por otra parte, el uso de solventes orgánicos puede resultar como un proceso costoso o presentar una afectación a la calidad y pureza del extracto.

Es por estos factores que se deben tomar ciertas medidas de precaución que garanticen la seguridad y a su vez la eficiencia del proceso de extracción (**Viera et al., 2022**).

Existen varios métodos para lograr extraer carotenoides de diversas fuentes, como frutas o vegetales entre los comunes o mayormente empleados se tienen:

- **Extracción con solventes orgánicos:** este es un método que se emplea con mayor frecuencia, consiste en mezclar la muestra con un solvente orgánico como por ejemplo la acetona, hexano o éter de petróleo. El solvente tiene la capacidad de extraer los carotenoides de la muestra vegetal. Después de un tiempo se da la separación de la fase orgánica que contiene los carotenoides y se evapora el solvente para obtener un extracto concentrado de estos.
- **Extracción con solventes polares:** se emplean solventes como el metanol, etanol o acetato de etilo para lograr realizar la extracción. Esta técnica se aplica cuando se desea extraer una gama mucho más amplia de carotenoides, entre ellos los que son más polares o hidrosolubles.
- **Extracción asistida por ultrasonido:** aquí se emplea ultrasonidos de alta frecuencia para aumentar la eficiencia de la extracción. Se crean ondas de presión a través de la energía ultrasónica, facilitando la lisis celular y la liberación de los carotenoides.

(**Kultys & Kurek, 2022**).

#### **1.1.4. Microencapsulación**

La microencapsulación es el proceso a través del cual se aplican técnicas de conservación para lograr preservar la calidad de diferentes sustancias sensibles (**Jyothi et al., 2010**). La técnica de microencapsulación consiste en envolver o encubrir partículas de un compuesto bioactivo de interés que cumplen con el tamaño de una micra aproximadamente dentro de una cubierta polimérica.

En la industria alimenticia lo que se busca es precautelar la integridad de los productos alimenticios funcionales, reducir de manera progresiva las grasas, mejorar las condiciones sensoriales o conservar de forma prolongada las moléculas de interés

(Calderón & Ponce, 2022). La microencapsulación de carotenoides a través del secado por aspersión es un proceso que en los últimos años ha venido tomando mucha más fuerza, debido a que es una de las técnicas más empleadas para proteger y preservar los compuestos bioactivos que pueden ser fácilmente degradados debido a la sensibilidad que presentan (Rocha et al., 2013).

Por lo general el proceso de microencapsulación de carotenoides a través del secado por aspersión es el siguiente:

- Preparación de la solución/emulsión
- Atomización
- Secado
- Recolección
- Almacenamiento

El proceso de microencapsulación de carotenoides empleando el secado por aspersión otorga varias ventajas, como la protección de los carotenoides a la exposición de oxígeno, a la luz y al calor, lo que genera una mayor estabilidad y un tiempo de vida útil mucho más prolongado del producto final como tal. Además, como lo detalla Rocha et al., (2012), con el empleo de la técnica de microencapsulación se obtiene una mejor distribución y aplicación de los carotenoides en alimentos y suplementos dietéticos.

#### **1.1.4.1. Suplementos alimenticios que contienen microencapsulados**

La European Food Safety Authority (EFSA) define el término “suplementos alimenticios” como: fuentes concentradas de nutrientes o sustancias con alto valor nutricional o complementario a una dieta equilibrada que se expende de manera dosificada (píldoras, tabletas, cápsulas, entre otras formas) y a su vez se comercializan de forma libre. El fin con el que se producen los suplementos alimenticios es principalmente para aportar un valor nutricional extra que ayude a controlar ciertos déficits (EFSA, 2018).

Estos complementos alimenticios no deben ser considerados como medicamentos, por tal motivo, no son capaces de cumplir con funciones farmacológicas, inmunológicas o de tipo metabólico. Es por esta razón que su uso no se encuentra involucrado dentro del tratamiento o prevención de posibles enfermedades ni mucho menos poseen la capacidad de modificar las funciones fisiológicas del organismo (**Food Standards Agency, 2018**).

En la actualidad lo que se busca es generar un complemento alimenticio que aporte seguridad, calidad y eficacia al momento de llegar al consumidor, ya que el consumo de estos se encuentra en aumento (**Dwyer et al., 2018**). Además, los suplementos alimenticios que contienen microencapsulados pueden otorgar diversos aportes nutricionales dependiendo de los ingredientes activos que se han encapsulado en su estructura como: vitaminas, minerales, ácidos grasos esenciales, antioxidantes, probióticos o extractos de plantas (**Dhakal & He, 2020**).

Para asegurar la inocuidad y seguridad de los polvos microencapsulados se deben realizar estudios de estabilidad, debido a que, dichos estudios generan especificaciones de tiempo de vida útil y condiciones de almacenamiento. En donde los productos mantienen la pureza, eficacia y propiedades organolépticas.

#### **1.1.4.2. Regulaciones vigentes de producción**

Dentro de la Normativa Sanitaria para el Control de Suplementos Alimenticios establecida dentro del ARCSA, se menciona que los suplementos alimenticios, pueden ser comercializados de forma libre; siempre y cuando estos cuenten con un Registro Sanitario o Notificación Sanitaria Obligatoria vigente (**ARCSA, 2019**). Los suplementos alimenticios para ser comercializados no deberán contener en su composición sustancias como: procaína, efedrina, yohimbina, germanio o cualquier otra sustancia que indique un riesgo a la salud esto bajo la normativa No. ARCSA-DE-028-2016-YMIH. Además, se deben tomar en cuenta las especificaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas establecidas en la Norma Técnica Ecuatoriana para Complementos Nutricionales NTE-INEN 2983 (**ARCSA, 2021**).

Además, deben ser elaborados bajo la responsabilidad técnica de un personal capacitado, calificado y con el conocimiento necesario para la elaboración de los productos. A su vez, estos no pueden ser expendidos en comercios informales, ferias, ventas ambulatorias y establecimientos en donde no se cumplan con los permisos de funcionamiento apropiado (ARCISA, 2019).

Por otro lado, los establecimientos que se encuentran aprobados para la elaboración de suplementos alimenticios, deberán estar certificados bajo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Para que se pueda obtener el respectivo permiso de funcionamiento se debe solicitar la categorización al Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca (MPCEIP) bajo la categorización de industria mediana, pequeña industria, microempresa o artesanal según sea el caso.

Además, dentro de las regulaciones vigentes para la evaluación de productos terminados para consumo se puede mencionar a la normativa ICH Q1B, que se encarga de evaluar parámetros o pruebas que se basan en la medición de la fotoestabilidad de productos y sustancias. Dentro de la guía se mencionan las siguientes los siguientes aspectos:

- **Selección de la fuente de luz:** el rango de radiación debe encontrarse entre 290 y 700 nm debido a que en este rango se puede ver afectada la estabilidad del producto.
- **Selección de la temperatura:** se deben aplicar varias temperaturas a las cuales se expone el producto, pero la recomendada para productos orales es de 25°C.
- **Evaluación de la fotodegradación:** se aplican diferentes criterios para lograr evaluar la fotodegradación de los productos como: cambios en la apariencia, olor, color y pureza.

(Salazar, 2023).

#### 1.1.5. Estabilidad

Según la normativa ICH (Q1A R2), el fin con que se realizan las pruebas de estabilidad es para recolectar evidencias sobre cómo la calidad de un producto varía con relación al tiempo bajo la influencia de factores como: temperatura, humedad o luz. Las pruebas

de estabilidad sirven para establecer períodos de vida útil y condiciones de almacenamiento recomendadas para el producto. El objetivo de los estudios de estabilidad es implantar un período de vida útil en base al análisis de mínimo tres lotes del producto. La variabilidad que se puede presentar dentro de los lotes individuales puede afectar de forma directa la confianza dentro de los criterios de aceptación para vida útil (**González et al., 2022**).

Un estudio de estabilidad en tiempo real se basa en el almacenamiento de un producto a condiciones recomendadas y se le realiza una supervisión constante, hasta que se determine que no cumple con las especificaciones que garantizan que sigue mantenido sus propiedades tanto organolépticas como físico – químicas óptimas (**Evers et al., 2022**).

#### **1.1.5.1. Variables indicativas de estabilidad**

La estabilidad de un producto o suplemento alimenticio se fundamenta en la capacidad que posee el producto para mantener la calidad, seguridad y eficacia durante el tiempo de vida útil que éste presente. Algunas de las variables que pueden indicar la estabilidad del producto son: contenido de ingrediente activo, humedad, pH, temperatura, luz, tiempo o contaminación microbiana (**Giannakourou & Taoukis, 2021**).

Durante la fase experimentación correspondiente a un estudio de estabilidad no se deben aceptar olores extraños en los ensayos, ni cualquier otro tipo de contaminación, así como la exposición a la luz intensa (**EMEA, 2003**). Además, se debe tener en cuenta los siguientes parámetros relacionados con la estabilidad tanto de extractos provenientes de plantas como microencapsulados:

- **Protección contra la luz:** varios compuestos de interés son sensibles a la luz, es por esta razón que se deben almacenar los microencapsulados en recipientes opacos o en envases que protejan al polvo microencapsulado de la luz
- **Protección contra la humedad:** la presencia de humedad puede afectar la estabilidad del microencapsulado y promover el crecimiento microbiológico



no deseado, si se mantienen un nivel de humedad por debajo del 5%, se considera que el polvo microencapsulado es seguro.

- **Evitar la oxidación:** para lograr la disminución de la oxidación, se deben almacenar los microencapsulados y los extractos en recipientes herméticos y evitar la exposición prolongada al aire.

(Choudhury et al., 2021).

### 1.1.5.2. Tipos de envases para almacenamiento

Entre los envases para almacenar extractos de plantas se deben utilizar frascos de tipo ámbar, la principal característica de estos frascos es que se emplean directamente para el almacenamiento de soluciones que son sensibles al efecto de la luz. El impedimento del paso de la luz se debe a que el envase se encuentra elaborado en base a vidrio de borosilicato color ámbar y por esta razón se protegen a las sustancias de los rayos UV, por lo general la boca es angosta esmerilada y con un tapón de polipropileno (Maraiki et al., 2016). Mientras que, para los microencapsulados se emplean fundas de tipo Ziploc de aluminio, estas son bolsas herméticas que se encuentran elaboradas por una capa de aluminio y otra capa de plástico, lo que le otorga varias características favorables, como por ejemplo que son impermeables, poseen una barrera contra el aire y la luz, protegen contra el calor, son reutilizables, fáciles de utilizar y son versátiles (Made & Gunam 2021).

### 1.1.5.3. Tiempo de vida útil

El tiempo de vida útil de un producto puede ser variable y esto depende de diferentes factores, como: composición del producto, el empaque o contenedor en donde se lo almacena (Verma et al., 2021). Se puede mencionar que en la gran mayoría de productos se informa al consumidor acerca de la vida útil de estos a través de la comunicación de la fecha de elaboración y de caducidad, o a su vez el tiempo de vida útil en el que este puede ser consumido ya sean días, semanas o meses específicos. Dicha fecha muestra el tiempo en el que se espera que el producto mantenga su calidad y sus propiedades organolépticas o fisicoquímicas en óptimas condiciones, teniendo en cuenta que las condiciones de almacenamiento sean las correctas, para esto se

realizan estudios de estabilidad con anterioridad al expendio de dichos productos **(LeDoux et al., 2015)**.

En el caso de los polvos microencapsulados estos pueden tener un tiempo de vida útil que pueden ir de días, meses o hasta incluso años. Algunas de las causas para que estos presenten un tiempo mayor o menor tiempo de vida útil son: los ingredientes o la formulación que presentan. Existen casos en donde el compuesto bioactivo o el material encapsulante son propensos a degradarse mucho más rápido en presencia de factores ambientales. Por lo tanto, se presenta un tiempo de vida útil menor **(Rocha et al., 2013)**.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Evaluar la vida útil de microencapsulados de carotenoides provenientes de desechos agroindustriales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en la provincia de Tungurahua.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Extraer carotenoides provenientes de residuos agroindustriales de tomate de árbol a escala de laboratorio.
- Analizar el comportamiento a través del tiempo de los indicadores fisicoquímicos del extracto y de los microencapsulados de carotenoides.
- Determinar el tiempo de vida útil del extracto y de los microencapsulados de carotenoides a través del paquete estadístico Minitab.

## CAPÍTULO II METODOLOGÍA

El presente proyecto de titulación se enfocó especialmente en el área de investigación, en donde, este fue de tipo cuantitativo, debido a que se obtuvieron valores netamente numéricos para cada una de las pruebas realizadas en el cumplimiento de los objetivos planteados.

### 2.1. Materiales

A continuación, se ha detallado el listado de equipos, reactivos y materiales empleados (Tablas desde la 3 a la 6).

**Tabla 3.** *Equipos de laboratorio.*

<b>Equipos</b>	<b>Cantidad</b>
Balanza analítica	1
Balanza de humedad	1
Espectrofotómetro	1
pH-metro	1
Plancha calefactora	1
Bomba de succión al vacío	1
Refrigerador	1
Deshidratador por convección	1
Rota evaporador	1
Homogeneizador de alta velocidad	1
Spray Dryer Buchi	1
Espectrofotómetro de infrarrojo de TF (FTIR)	1

**Tabla 4.** *Reactivos de laboratorio.*

<b>Reactivos</b>	<b>Cantidad</b>
Agua destilada	7 litros
Etanol	6 litros
Metanol	250 ml
Maltodextrina	168,36 gramos
Goma arábica	168,36 gramos
DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)	240 µL

**Tabla 5.** *Materiales de laboratorio.*

<b>Materiales</b>	<b>Cantidad</b>
Vasos de precipitación de 1000ml	6
Vasos de precipitación de 100 ml	12
Espátula	3
Placas para espectrofotómetro	2
Escobilla para tubos	2
Matraz Kitasato	1
Platos de aluminio	2
Magnetos	2
Embudo Bushner	1
Frascos ámbar de 1L	3
Frascos ámbar de 100 ml	18
Papel filtro	2 pliegos

**Tabla 6.** *Materiales de escritorio.*

<b>Insumos y Materiales</b>	<b>Cantidad</b>
Papel aluminio	1 rollo
Toallas de papel desechable	4 rollos
Fundas ziploc de aluminio	15 unidades
Guantes	1 caja
Jabón líquido	1 frasco
Computadora	1 unidad
Rotulador	3 unidades
Cinta adhesiva	2 rollos
Esferos	2 unidades

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Extracción de carotenoides provenientes de residuos agroindustriales de tomate de árbol a escala de laboratorio.**

#### **2.2.1.1. Obtención del material vegetal**

Se obtuvo la cáscara de la fruta de tomate de árbol proveniente del Mercado Mayorista de Ambato específicamente de la planta de producción de pulpas y conservas “Planhofa C.A”, esta planta procesadora desecha las cáscaras que se utilizaron para la elaboración del presente proyecto de investigación. Luego, esta materia prima se trasladó hacia los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato.

#### **2.2.1.2. Limpieza de la materia prima**

Se lavó a chorro constante la materia prima obtenida con agua potable para descartar la presencia de tierra e impurezas. Luego se procedió con el corte de las cáscaras en porciones pequeñas con mediciones de 2 cm aproximadamente cada una de ellas, estos trozos se sometieron a un proceso de secado dentro de un deshidratador por convección a una temperatura de 50°C durante un tiempo de 55 horas, dicho proceso se llevó a cabo en el laboratorio 2.6 (Conservación de alimentos) perteneciente a la UODIDE. Luego, se trituraron las muestras ya secas hasta la obtención de partículas pequeñas y finas. Finalmente, se preservó el polvo fino dentro de fundas herméticas a temperatura ambiente (Urbina et al., 2020).

#### **2.2.1.3. Obtención del extracto a nivel de laboratorio**

Se obtuvieron 3 lotes de extractos cada uno de ellos elaborados inicialmente con 1 litro de etanol. Este proceso se llevó a cabo en el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se utilizó una relación de material vegetal /volumen de disolvente 1:70, empleando etanol al 96 %, este inicialmente se calentó durante 30 minutos hasta que alcanzó una temperatura de 50°C

(Urbina et al., 2020). Se siguió la metodología establecida por Pérez, (2019), en donde la extracción de carotenoides se llevó a cabo de manera convencional en una plancha de calentamiento. Luego, se agitó la mezcla a una velocidad de 600 rpm por 30 minutos aproximadamente. Después, se filtró el sobrenadante de cada uno de los lotes de extractos y estos se almacenaron en frascos color ámbar de vidrio dentro de un refrigerador cuya temperatura fue menor a los 6 °C.

#### 2.2.1.4. Determinación de la concentración de carotenoides totales

Se empleó un método espectrofotométrico con ayuda del espectrofotómetro cuyo fundamento se basa en la medición de la cantidad de luz que una sustancia química puede absorber en un determinado rango de longitud de onda (Soomro et al., 2008). La realización del cálculo requerido para este apartado se llevó a cabo en el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se cuantificó a una longitud de onda de 472 nm. Se usó la ecuación 1 recuperada de Strati & Oreopoulou, (2011) para el cálculo final de la concentración de carotenoides:

$$C = \frac{A_{\lambda max} 10^4}{E} \quad (1)$$

En donde:

$A_{\lambda max}$  es la absorbancia medida del extracto.

$E$  es el coeficiente de absortividad del disolvente en este caso etanol cuyo valor es 3950.

#### 2.2.1.5. Determinación de la eficiencia de extracción

Este apartado se llevó a cabo en el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se determinó la eficiencia de extracción (CY) por medio de la relación existente entre la masa de carotenoides extraída y la masa del residuo vegetal seco que se empleó durante el proceso de extracción. Teniendo la siguiente ecuación 2:

$$CY = C * \frac{V}{W} \quad (2)$$

En donde:

$C$  es la concentración de licopenos y se expresó en unidades de  $mg.L^{-1}$ .

$V$  es el volumen del extracto expresado en litros (L).

$W$  es el peso en kg de residuo vegetal de tipo seco que se utilizó en la extracción (Strati & Oreopoulou, 2011).

#### 2.2.1.6. Microencapsulación del extracto por medio de secado por aspersión

Para la obtención del microencapsulado se usó el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se concentró el extracto obtenido a escala de laboratorio en un volumen de 3L empleando el equipo de rotavapor (IKA RV8) a una temperatura de 50 °C, velocidad de 200 rpm de agitación, esto de acuerdo con la metodología aplicada por Correa et al., (2019). Se preparó una emulsión empleando un 30 % de extracto concentrado de carotenoides, y un 35 % de maltodextrina y el mismo porcentaje de goma arábica usando el equipo mini Spray Dryer (BUCHI-B290) a una temperatura de 120°C para la entrada y otra de 80°C para la salida según la metodología realizada por Pazmiño et al., (2022).

#### 2.2.1.7. Determinación del porcentaje de eficiencia de la microencapsulación

Se disolvió 0.01g del microencapsulado en 1 ml de etanol y la misma cantidad del microencapsulado en 1 ml de agua destilada. La cuantificación de los carotenoides se realizó a través de la ecuación 3 recuperada de Lakkis, (2016):

$$\% \text{ Eficiencia de la microencapsulación} = \frac{DT - DP}{DT} * 100 \quad (3)$$

En donde:

$DT$  es la concentración de licopenos de forma total de la disolución con agua.

$DP$  es la concentración de licopenos parcial de la disolución con etanol.



Todo este proceso se llevó a cabo dentro del laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE.

## **2.2.2. Análisis del comportamiento a través del tiempo de los indicadores fisicoquímicos del extracto y de los microencapsulados de carotenoides**

### **2.2.2.1. Caracterización de los extractos vegetales y del microencapsulado**

De los 3 lotes de extracto obtenido con un volumen total de 3L, se almacenaron en frascos de tipo ámbar, a una temperatura menor a 6°C dentro del refrigerador Kelvinator. Teniendo en cuenta que para llevar a cabo la caracterización se usó el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se realizó la caracterización físico – química de los extractos vegetales para los ensayos de: porcentaje de humedad (determinación de sólidos solubles totales), pH, concentración de carotenoides, actividad antioxidante y eficiencia de extracción, el muestreo fue llevado a cabo cada 3 días por 15 días. Después, al ver que no se dieron variaciones significativas de los valores en los ensayos realizados se volvió a realizar una nueva medición a los 69 días de la elaboración del extracto, únicamente para evidenciar si con el paso del tiempo existieron cambios en los 3 lotes de extractos obtenidos, además, los ensayos fueron realizados por triplicado y se compararon las medias obtenidas en cada uno de estos.

Se obtuvieron 3 lotes de carotenoides microencapsulados, estos fueron almacenados a temperatura ambiente dentro del laboratorio 1.1 de la UODIDE, en fundas tipo Ziploc de aluminio. Se realizó un muestreo cada 3 días por 30 días. La caracterización físico - química se llevó a cabo en base a la medición de: porcentaje de humedad, pH, actividad antioxidante y eficiencia de microencapsulación, estos ensayos fueron realizados por triplicado y se compararon las medias obtenidas en cada uno de ellos. Además, para explicar de mejor manera o para contrastar con el estudio de estabilidad de microencapsulados se realizaron las mismas pruebas mencionadas con anterioridad a tres lotes de microencapsulados de carotenoides provenientes de tomate de árbol donados por la Lic. Danae Fernández Rivero MSc, los cuales que fueron elaborados el 10/02/2021. Esto con la finalidad de observar si con el pasar del tiempo se alteran o

afectan las propiedades tanto físicas como químicas de estos, lo cual ayudó a determinar con mayor certeza el posible tiempo de vida útil que se les puede dar.

#### **2.2.2.2. Medición del porcentaje de humedad del extracto y del microencapsulado**

Esta medición se realizó en el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se tomó en cuenta la metodología empleada por **Urbina et al., (2020)**, en donde se utilizó una balanza de humedad con presencia de rayos infrarrojos (Kern MLS 50-3) para el cálculo del porcentaje de humedad presente. Para la medición se colocó una pequeña cantidad del extracto o microencapsulado obtenido (de 3 a 5 g) dentro del equipo.

#### **2.2.2.3. Determinación del pH del extracto y del microencapsulado**

Este procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio 1.1. (Laboratorio de caracterización microscópica) perteneciente a la UODIDE. Se empleó un método potenciométrico que sirve para determinar la acidez o alcalinidad que presenta una muestra. Se utilizó el potenciómetro (Thermo Scientific ORION VERSASTAR) para lo cual se tomó una alícuota del extracto en el que se introdujo el electrodo que posee el equipo para realizar la medición. Para la determinación del pH del microencapsulado se realizó una dilución del microencapsulado en una relación 1:10 con agua destilada **Mourtinho, (2007)**.

#### **2.2.2.4. Medición de la actividad antioxidante por DPPH para el extracto y microencapsulado**

Se siguió la metodología realizada por **Bobo et al, (2015)**, se empleó el reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) en donde este fue preparado a una concentración de 60  $\mu\text{mol/L}$  junto con metanol al 80 % por un tiempo de reacción aproximado de 20 minutos. Por otro lado, para la medición de actividad antioxidante del extracto y del microencapsulado se siguió la metodología realizada por **Iturriaga, (2014)**, en donde se colocó 20  $\mu\text{L}$  de extracto o microencapsulado disuelto en agua junto con 180  $\mu\text{L}$  del reactivo en una placa de 96 pocillos a un tiempo de agitación de 1 minuto. Finalmente,

se incubó la placa en ausencia de luz por 40 minutos aproximadamente antes de realizar la lectura en el espectrofotómetro.

Como establece **Lugo et al. (2018)**, se debe tener en cuenta que tanto para el extracto como para el microencapsulado la relación con las curvas de calibración se ha empleado Trolox como un antioxidante de referencia, se preparó una solución madre a una concentración de  $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$  para luego realizar diluciones hasta llegar a concentraciones de 50, 100, 200, 400 y  $500 \mu\text{mol.L}^{-1}$  teniendo en cuenta que se cumpla una relación 50:50 de solución con agua- etanol.

Se visualizó el cambio de coloración a una absorbancia de 515 nm a 25°C. Para la determinación del porcentaje de inhibición del DPPH se empleó la ecuación 4 utilizada por **Bobo et al. (2015)**, la misma que se detalla a continuación:

$$\%Inhibición\ DPPH = \left( 1 - \left( \frac{Am - Ab}{Ac - Ab} \right) \right) * 100 \quad (4)$$

En donde:

**Am** es la absorbancia de la muestra.

**Ab** es la absorbancia del blanco.

**Ac** es la absorbancia control.

El fundamento de esta prueba se basa en que el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo tiende a reaccionar con el compuesto antioxidante y a su vez este cede un átomo de H al agente oxidante dando como resultado un cambio de coloración (**Bobo et al., 2015**).

#### 2.2.2.5. Espectroscopia infrarroja

Se realizó un análisis a través de la espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR) en un rango de frecuencia de 400 a  $4000 \text{ cm}^{-1}$  a las muestras del extracto vegetal concentrado obtenido y al microencapsulado (**Pérez, 2019**). El

fundamento se basa en la radiación de infrarrojos que logra alcanzar una muestra, esta técnica parte de la radiación que suele ser captada por la muestra y otra parte de dicha radiación la traspasa (**Jordana et al., 2012**). Se realizaron las mediciones para los tres lotes de microencapsulados obtenidos en el presente año como para los del año 2021.

### **2.2.3. Determinación del tiempo de vida útil del extracto y de los microencapsulados de carotenoides a través del paquete estadístico Minitab.**

#### **2.2.3.1. Análisis estadístico**

Se realizaron las comparaciones de las medias de las tres réplicas aplicadas a cada una de las pruebas empleando el software Minitab mismo que cuenta con una licencia gratuita por 30 días, período en el cual se realizaron los análisis estadísticos necesarios debido a que los datos se recolectaron con anterioridad durante la realización de la parte experimental. A través de las funciones que ofrece este paquete estadístico, se identificaron los pronósticos de vida útil tanto del microencapsulado y del extracto de carotenoides obtenidos. Además, se pronosticaron intervalos de confianza para contrastar con las líneas de vida útil generadas.

## CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Análisis y discusión de resultados

#### 3.1.1. Obtención de los extractos y microencapsulados de carotenoides provenientes de desechos agroindustriales a nivel de laboratorio

Dentro de la **Tabla 7** se muestran los volúmenes finales de extracción para cada uno de los lotes.

**Tabla 7.** *Obtención del volumen final del extracto.*

Lote	Volumen final extraído (ml)
1	$982,24 \pm 0,002$
2	$986,08 \pm 0,003$
3	$983,09 \pm 0,019$

Se utilizó una relación 1:70 entre el material vegetal y solvente. Se empleó etanol como solvente, ya que este no degrada los carotenoides que se encuentran en el extracto (**Luengo et al., 2014**). Al finalizar con el proceso de extracción, se observó una reducción en el volumen final, debido a que el etanol se evapora mucho más rápido que otros líquidos, debido a la baja capacidad calorífica y la presión de vapor alta que presenta (**Luo et al., 2021**).

En la **Tabla 8** se presenta la concentración de carotenoides presentes dentro de los lotes de extractos provenientes de desechos agroindustriales.

**Tabla 8.** *Concentración de carotenoides presentes en el extracto.*

<b>Lote</b>	<b>Concentración (mg/ L)</b>
1	0,60 ± 0,003
2	0,62 ± 0,129
3	0,50 ± 0, 001

En los estudios realizados por **Pazmiño et al. (2022)**, se refleja un valor de 0,55 mg/L, lo que indica relación con los valores obtenidos. Por otro lado, la investigación realizada por **Diep et al. (2020)**, en donde los valores fueron entre 0,4 y 0,5 mg/ L en comparación con los resultados reportados en el presente estudio muestran similitud. Entonces, se puede afirmar que si se replica el método de **Pazmiño et al. (2022)** para determinar la concentración de carotenoides se obtendrán valores como los mencionados anteriormente. Es importante destacar que los autores anteriores utilizaron tomate de árbol como matriz vegetal en ambos estudios. Es crucial realizar la cuantificación de la concentración de carotenos presentes en el extracto con el fin de asegurar la calidad, eficacia, seguridad del extracto y en sí para optimizar el proceso de extracción (**Norshazila et al., 2017**).

Los valores obtenidos para el proceso de eficiencia de extracción en los tres lotes de extractos se observan en la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** *Eficiencia de extracción.*

<b>Lote</b>	<b>Eficiencia de extracción (mg/ kg)</b>
1	16,48 ± 0,203
2	16,58 ± 0,342
3	16,84 ± 0,586

La eficiencia de extracción depende de la solubilización de los carotenoides en presencia de etanol (**Norshazila et al., 2017**). La solubilización del material vegetal seco depende de diferentes factores como su estructura química, polaridad y tamaño molecular. Debido a esto, la relación entre la cantidad de material vegetal y el volumen

del disolvente utilizado es un aspecto relevante que influye significativamente en el proceso de extracción.

Los resultados obtenidos por **Rubashvili et al. (2018)** indican que la cantidad de carotenos que pueden ser extraídos de 1 gramo de material vegetal seco de cáscara de tomate pueden estar entre 165, 11 y 173,79  $\mu\text{g}$ . Según los estudios realizados por **Strati y Oreopoulou (2011)**, la eficiencia de extracción puede variar, con valores que van de 5 a 45 mg/kg utilizando cáscaras de tomate. Este rango se debe a las temperaturas de extracción y al tiempo utilizado, que fueron de 25 a 60°C durante 30 minutos en ese estudio. En contraste, en este estudio se empleó una temperatura constante de 50°C durante 30 minutos de extracción. Además, la relación material vegetal/disolvente de 1:70 tuvo un impacto directo en la capacidad de extracción y evitó la saturación del disolvente utilizado.

Existe una diferencia notable al comparar los valores obtenidos en este estudio con los datos reportados por **Pérez (2019)**, en cuanto al rendimiento de extracción, que fue del 0,0084 % o equivalente a 84 mg/kg. Esto se da porque los residuos agroindustriales de tomate de árbol no fueron procedentes de la misma fuente. Además, se emplearon diferentes grados de madurez del fruto o variedades con distinta coloración (amarilla o roja). Otro factor que influye en la degradación de los carotenoides presentes es el tiempo de secado y almacenamiento del material vegetal. De acuerdo con **Fратиanni et al. (2020)**, la temperatura y el período de secado pueden afectar tanto la composición como la cantidad de carotenos presentes en el fruto, lo que podría explicar estas variaciones.

Se realizó el proceso de concentración de carotenoides de los tres lotes de extractos generados con anterioridad a través del uso del rotaevaporador. En los siguientes resultados se presentan los valores obtenidos en el procedimiento de secado por aspersión utilizado para microencapsular el extracto concentrado. Se midió la cantidad de sólidos solubles totales presentes en el extracto antes de comenzar con el proceso de microencapsulación, ya que es importante tener en cuenta la concentración, carga y estabilidad de estos para obtener un rendimiento eficiente durante el proceso de microencapsulación del componente de interés.

La cantidad de microencapsulado final obtenido fue de 122,61 gramos, la cual dependió directamente de las concentraciones usadas en la emulsión preparada con goma arábica, maltodextrina, agua destilada y extracto concentrado. La emulsión se preparó con una concentración del 35 % de goma arábica y el mismo porcentaje de maltodextrina, y 30 % de extracto concentrado de carotenoides. El porcentaje de rendimiento de la microencapsulación fue de 64,87 % (Anexo 1), con una temperatura de entrada de 120°C y salida de 80°C en el mini Spray Dryer. Estas temperaturas se basaron en un estudio de **Pazmiño et al. (2022)**, quienes usaron la misma matriz vegetal y obtuvieron un rendimiento del 64,67%, lo que justifica la elección de estas temperaturas además de que proporciona resultados similares.

La eficiencia de la microencapsulación se debe a la estabilidad de la emulsión preparada con la matriz polimérica y el extracto concentrado antes de ser introducida en el equipo. **Tonon et al. (2011)**, respaldan esta afirmación, ya que sugieren que una correcta preparación de la emulsión resulta en la obtención de un producto final de mejor calidad, un proceso de microencapsulación más eficiente y un uso más eficaz de los recursos. Si la emulsión no se prepara adecuadamente, los ingredientes activos se pierden y se obtiene un recubrimiento deficiente de los compuestos de interés.

La **Tabla 10** muestra los porcentajes correspondientes a la eficiencia de microencapsulación de los tres lotes (Anexo 2, 3 y 4).

**Tabla 10.** *Eficiencia de microencapsulación.*

<b>Lote</b>	<b>Eficiencia de microencapsulación (%)</b>
1	95,30 ± 0,026
2	95,63 ± 0,017
3	95,83 ± 0,081

De acuerdo con los resultados obtenidos de **Urbina et al. (2020)**, donde reportan un valor de eficiencia de microencapsulación de 99,39 % de carotenoides provenientes de la misma matriz vegetal que se usó en este estudio, se evidencian algunas diferencias



en los datos reportados, aunque se encontraron valores altos que validan la metodología utilizada en este trabajo como viable y eficiente.

La eficiencia de la microencapsulación obtenida se debe en parte a la mezcla de goma arábica y maltodextrina, las cuales forma una matriz polimérica que microencapsula casi por completo el compuesto de interés, lo que aumenta la eficiencia del proceso. **García et al. (2018)** reportan que el uso exclusivo de maltodextrina como agente encapsulante permitió preservar solamente el aroma y el color de los carotenoides del tamarillo, y mencionan una eficiencia de microencapsulación del 42 %. Por otro lado, **Correa et al. (2019)** utilizaron goma arábica como material de pared encapsulante para carotenoides de orujo de tomate, y obtuvieron una eficiencia que osciló entre 3,4 % y 20,5 % a una temperatura máxima de 200°C, lo que evidencia las ventajas de la combinación de goma arábica y maltodextrina en la microencapsulación de compuestos activos.

### **3.1.2. Caracterización fisicoquímica a través del tiempo de los extractos vegetales y de los microencapsulados de carotenoides obtenidos**

#### **3.1.2.1. Caracterización de los extractos vegetales de carotenoides**

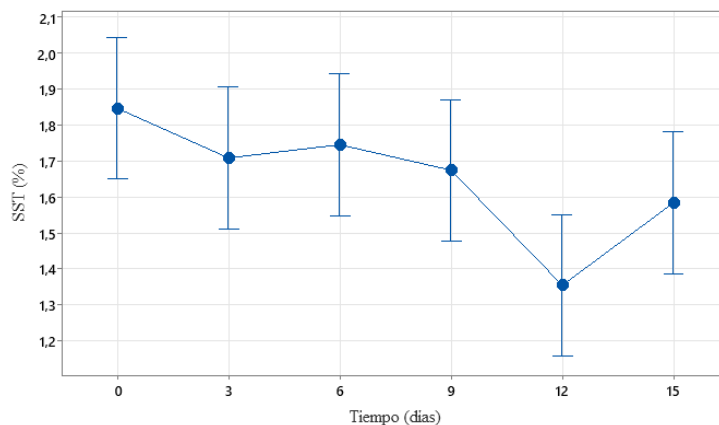
Los valores de los sólidos solubles totales (SST) en los tres lotes de extractos durante los 15 días de experimentación se presentan en el Anexo 5. Se determinó la cantidad de SST a través del contenido de humedad que presenta el extracto, lo cual indica la presencia del compuesto bioactivo de interés en la cáscara seca del tomate de árbol. Es importante realizar la medición de este parámetro debido a que diversos factores pueden acelerar la degradación de los carotenoides presentes en el extracto, incluyendo reacciones de hidrólisis y oxidación, lo que a su vez puede propiciar la proliferación de microorganismos y reducir la confiabilidad del extracto (**Yu et al., 2022**).

Los análisis realizados tras los días de experimentación demuestran que el rango de valores de los SST osciló entre  $1,43 \pm 0,501$  a  $1,90 \pm 0,118$  %, lo que indica que la disminución generada ha sido relativamente baja. La disminución del SST puede estar relacionada con la formación de sedimentos que contienen sólidos solubles que inicialmente se encontraban formando parte del extracto, la degradación o el deterioro

químico que ocurre con el tiempo, la evaporación del solvente o la exposición a la luz, el calor o la humedad, tal y como señala **Kumar et al. (2018)**. La variación en la cantidad de sólidos solubles totales (SST) en los tres lotes de experimentación en algunos días puede deberse a errores en las mediciones.

Estos errores pueden darse por una falta de agitación del frasco que contiene el extracto antes de ser introducido en el equipo, o medir los SST sin dejar que el extracto se aclimate previamente a temperatura ambiente. La temperatura es un factor crítico por considerar para realizar mediciones de SST, como menciona **Torun et al. (2015)** en su experimento con extractos de hojas de salvia (*Salvia fruticosa Miller*). Si la temperatura se eleva, es posible que se cuantifique una cantidad mayor de SST. Por un lado, es posible obtener valores más elevados de sólidos solubles totales (SST) al trabajar con matrices frescas, tal y como señalan **Tamburini et al. (2017)**. Estos autores lograron obtener valores de SST del 5,3 al 13,7 % de carotenoides a partir de la pulpa fresca de sandía (*Citrullus lanatus*), lo que demuestra que en matrices vegetales que han pasado por un proceso de secado previo, como es el caso de la piel de tomate de árbol, es posible que se produzca una disminución significativa del compuesto de interés.

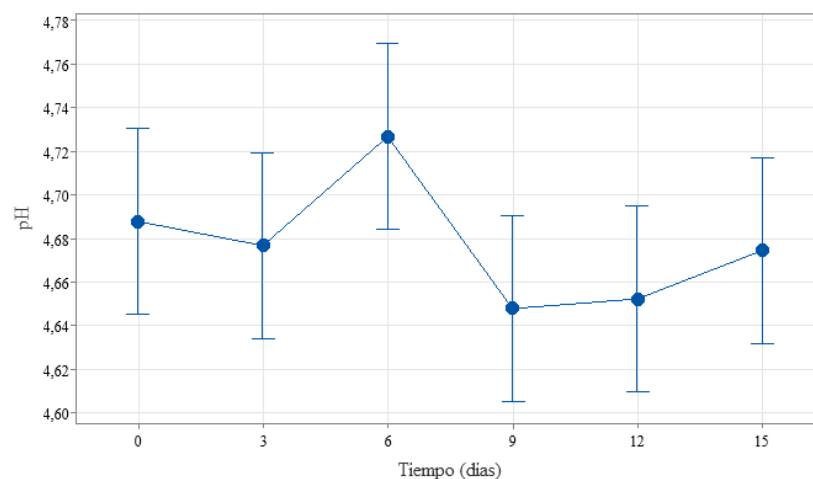
Por otro lado, **Derradji et al. (2014)** reportaron valores entre el 17,05 y el 21,01 % de SST de carotenoides presentes en extractos de la pulpa fresca de uva, lo que sugiere que la presencia de SST depende en gran medida de la frescura de la matriz vegetal utilizada en el proceso de extracción. En la **Figura 2** se puede observar la comparación de medias que se realizó para la cuantificación de sólidos solubles totales (SST) presentes en el extracto. En la tabla ANOVA (Anexo 6), se presenta el valor de  $P=0,1938$  y este a su vez es mayor a 0,05 y se establece que no existe una diferencia estadística significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel de significancia del 95% de confianza.



**Figura 2.** Comparación de las medias con relación a los sólidos solubles obtenidos.

A continuación, los resultados que se muestran en la tabla de caracterización fisicoquímica con relación al pH (Anexo 5) para los 3 lotes de extractos muestran que los valores estuvieron en un rango de  $4,63 \pm 0,025$  a  $4,69 \pm 0,006$  durante los 15 días de experimentación. Los resultados obtenidos, en comparación con los valores reportados por **Pinto et al. (2007)** en un extracto de tomate de árbol con presencia de ácido cítrico como solvente osciló entre  $3,8 \pm 0,1$  y  $4,0 \pm 0,1$ , lo que demuestra la influencia del solvente utilizado en el proceso de extracción. Además, los valores obtenidos en este estudio se deben al hecho de que el pH de un extracto de carotenoides elaborado con etanol, que posee un pH de 7,0, logra disminuir la acidez característica del tomate de árbol, y un extracto de este tipo puede estar en un rango que va entre 3,45 a 6,0, tal y como reporta **Da Silva et al. (2016)**.

Por otro lado, en estudios realizados por **Cheng et al. (2023)** sobre la extracción de carotenoides en diferentes matrices vegetales, se determinó que el valor óptimo de pH en los extractos de carotenoides fue de 6,0, lo que demuestra que estos compuestos pueden mantenerse estables. Es por ello por lo que, el pH que se encuentra presente en los extractos del presente estudio se encuentra dentro del rango óptimo. En la **Figura 3** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para el pH del extracto durante los 15 días de experimentación. En la tabla ANOVA (Anexo 7), se presenta un valor de  $P=0,2719$  y este a su vez es mayor a 0,05 y se establece que no existe una diferencia estadística significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel de significancia del 95% de confianza.

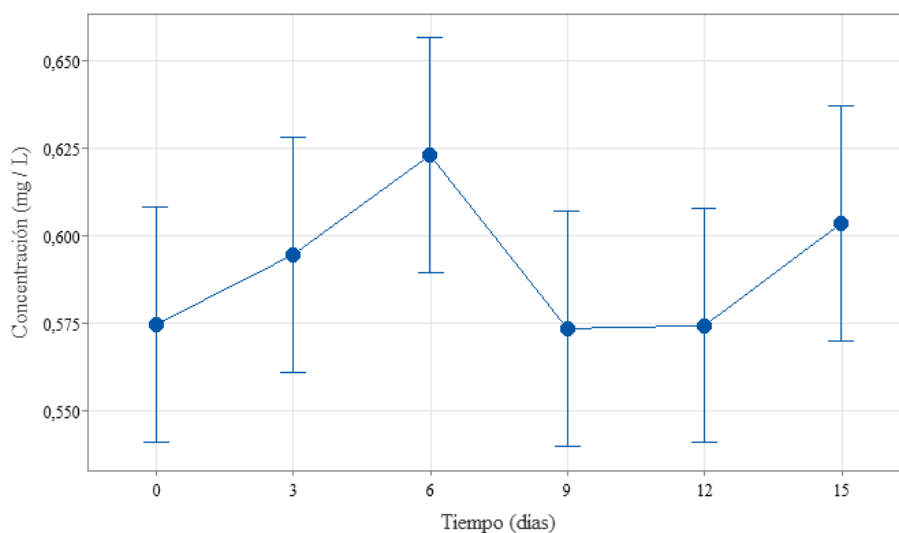


**Figura 3.** Comparación de medias con respecto al pH del extracto.

Dentro del Anexo 5 se presentan los resultados correspondientes a los 15 días de experimentación, con respecto a la concentración de carotenoides en el extracto estos se encuentran en un rango que va de  $0,56 \pm 0,010$  a  $0,66 \pm 0,003$  mg/L. Estas concentraciones tienden a disminuir lentamente con el transcurso del tiempo. La disminución de la concentración de carotenoides se debe a diversos factores, como lo señala **Kopsell (2006)**, entre los cuales se encuentran: la degradación química causada por la sensibilidad de los carotenoides a la luz, el calor y la oxidación. Con el pasar del tiempo, estos procesos de degradación conducen a una disminución de la concentración de los carotenos (**Norshazila et al., 2017**). Aunque se apliquen condiciones rigurosas y adecuadas de almacenamiento, se produce esta disminución y, más aún si se exponen a condiciones desfavorables, se acelera el proceso de degradación.

La presencia de oxígeno es capaz de oxidar los carotenoides debido a que su estructura posee dobles enlaces conjugados que los hacen susceptibles a esta reacción. Asimismo, cuando los carotenoides son expuestos a la luz, pueden sufrir la ruptura de estos enlaces, lo cual puede dar lugar a la formación de productos degradados. Además, la presencia de ácidos fuertes puede generar hidrólisis en los enlaces éster que se encuentran presentes en los carotenoides, mientras que metales como el hierro y el cobre pueden catalizar las reacciones de degradación de los carotenoides y generar radicales libres en el proceso (**Meléndez et al., 2019**).

En la **Figura 4** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para la concentración de carotenoides presentes en el extracto durante los 15 días de experimentación. En la tabla ANOVA (Anexo 8), se presenta el valor  $P= 0,4432$  siendo este mayor a 0,05 se puede establecer que no existe una diferencia estadística significativa entre las medias de las 6 variables con un nivel de significancia del 95% de confianza.



**Figura 4.** Comparación de medias con respecto a la concentración de carotenoides.

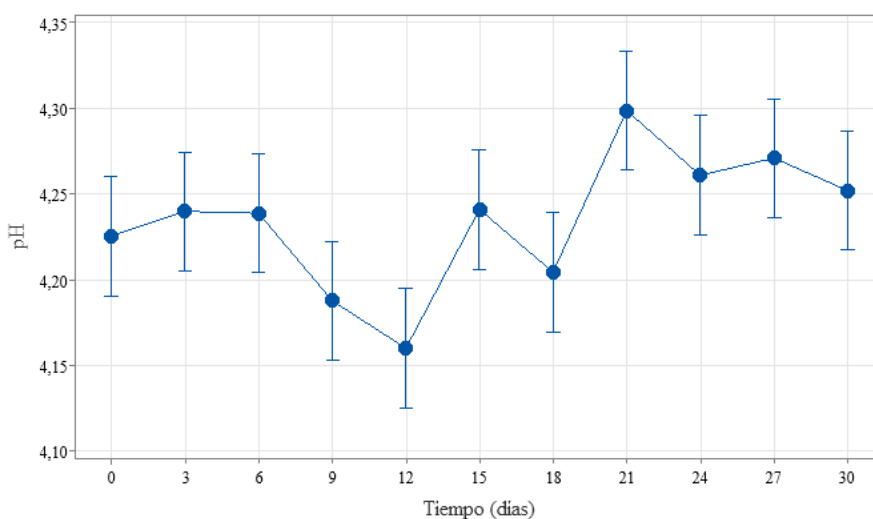
### 3.1.2.2. Caracterización de los microencapsulados

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de los microencapsulados generados a partir del extracto concentrado de carotenoides, en donde el tiempo de experimentación fue de 30 días. En el Anexo 9 se encuentran registrados los valores de pH para los lotes generados durante el año 2023, los cuales oscilan entre  $4,19 \pm 0,015$  y  $4,29 \pm 0,006$  para los 3 lotes. Por su parte, en el Anexo 10 se presentan los valores correspondientes a los microencapsulados elaborados en el año 2021, donde el rango para este mismo parámetro se encuentra entre  $3,91 \pm 0,006$  y  $5,65 \pm 0,002$ .

Los estudios realizados por **Correa et al. (2022)**, quienes investigaron la microencapsulación de carotenoides provenientes de *Solanum lycopersicum*, concluyen que este proceso no tiene un impacto significativo en el pH del compuesto

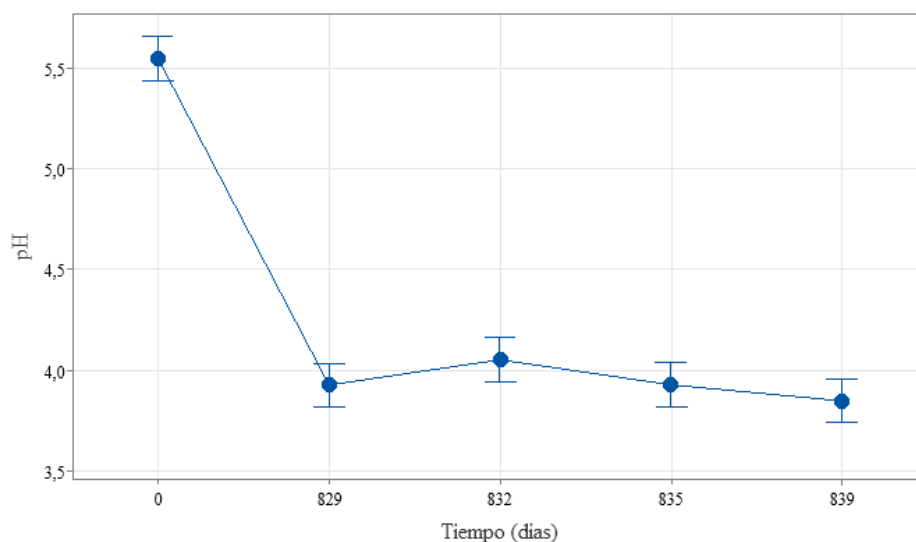
bioactivo de interés. Para evitar afectaciones en el pH, es necesario seleccionar adecuadamente matrices poliméricas que sean compatibles con el compuesto bioactivo, de manera que se preserve su pH inicial durante el proceso de microencapsulación.

En la **Figura 5** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para la medición del pH que se encuentra presente en los microencapsulados elaborados en el año 2023 durante 30 días de experimentación. En la tabla ANOVA (Anexo 11), se presenta un valor de  $P= 0,1022$  y este a su vez es mayor a  $0,05$  estableciendo que no existen diferencias estadísticas significativa entre las medias de las 11 variables con un nivel de significancia del 95% de confianza.



**Figura 5.** Comparación de medias con respecto al pH del microencapsulado año 2023.

En la **Figura 6** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para la medición del pH que se encuentra presente en los microencapsulados elaborados en el año 2021. En la tabla ANOVA (Anexo 12), se reporta el valor  $P= 0,000$  y este a su vez es menor a  $0,05$  entonces se puede establecer que sí existen diferencias estadísticas significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel de significancia del 95% de confianza.



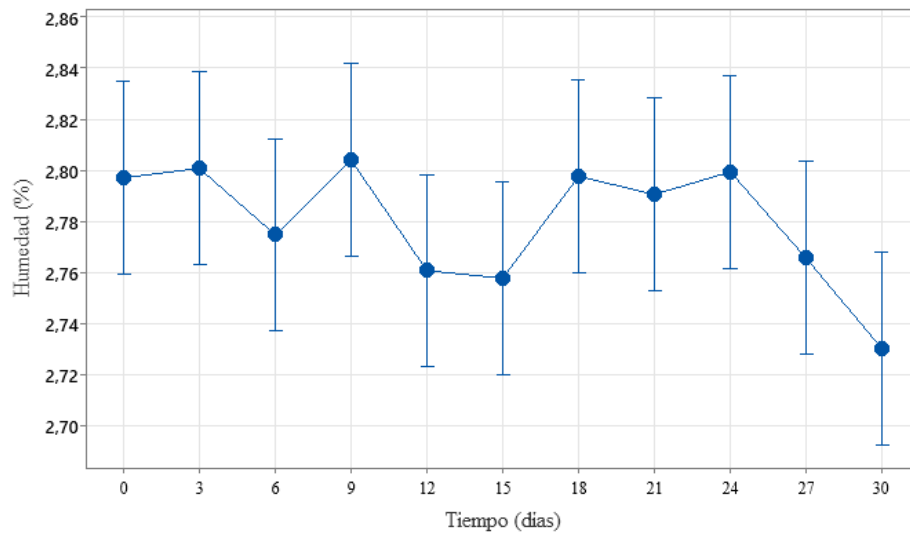
**Figura 6.** Comparación de medias con respecto al pH del microencapsulado año 2021.

La disminución del pH en estos microencapsulados puede deberse a varios factores como: reacciones químicas entre los componentes que conforman el microencapsulado en las que se pueden generar productos ácidos o básicos, la degradación del material encapsulante, cambios en el entorno externo o presencia de actividad microbiana (Choudhury et al., 2021).

Los resultados para el ensayo humedad de los microencapsulados elaborados en el año 2023 se encuentran detallados en el Anexo 9, donde se aprecia que los valores no superan el 3 %. Mientras que, los lotes generados en el año 2021 muestran valores superiores al 6 % (Anexo 10). En comparación con los estudios realizados por **Goula y Adamopoulos (2005)**, que registraron valores de humedad entre 5 y 10 % en estudios de estabilidad de microencapsulados de pulpa de tomate, los valores obtenidos en este estudio demuestran que la conservación de los carotenoides microencapsulados no se ve afectada por la presencia o proliferación de microorganismos dentro de este rango.

Esta afirmación se sustenta bajo la premisa de que una gran cantidad de microorganismos necesitan niveles de humedad para proliferarse, ya que la humedad es esencial para que estos puedan movilizarse o transporten sustancias hacia la célula y así cumplir con sus funciones metabólicas (Calderón & Ponce, 2022).

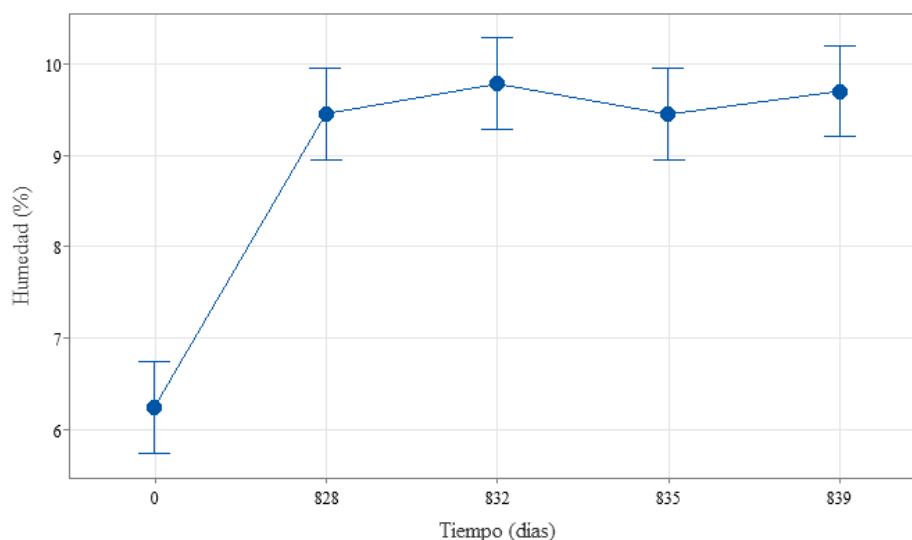
En la **Figura 7** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para el cálculo del porcentaje de humedad que se encuentra presente en los microencapsulados elaborados en el año 2023. En la tabla ANOVA (Anexo 13), se presenta el valor  $P=0,1597$  y este a su vez es mayor a  $0,05$  estableciendo que no existen diferencias estadísticas significativas entre las medias de las 11 variables con un nivel de significancia del 95 % de confianza.



**Figura 7.** Comparación de medias con respecto a la humedad del microencapsulado año 2023.

En la **Figura 8** se puede observar la comparación de medias que se ha realizado para el cálculo del porcentaje de humedad que se encuentra presente en los microencapsulados elaborados en el año 2023. En la tabla ANOVA (**Anexo 14**), se presenta el valor  $P=0,004$  y este a su vez es menor a  $0,05$  estableciendo que sí existen diferencias estadísticas significativas entre las medias de las 5 variables con un nivel de significancia del 95 % de confianza.





**Figura 8.** Comparación de medias con respecto a la humedad del microencapsulado año 2021.

Se presentan varios factores que explican el incremento del porcentaje de humedad en los microencapsulados elaborados en el año 2021. Las principales causas pueden ser: la permeabilidad que presentan los materiales de pared encapsulante en donde estos permiten el ingreso de agua al interior del microencapsulado o la interacción del microencapsulado con un entorno que posee niveles elevados de humedad (**Made et al., 2021**).

### 3.1.2.3. Actividad antioxidante empleando DPPH

Se llevó a cabo el ensayo por DPPH para medir la actividad antioxidante. Para esto, se elaboró la curva de calibración con Trolox en una concentración de 50 a 500  $\mu\text{mol/L}$ , obteniendo la siguiente ecuación de la recta:  $y = 0,1855x - 1,3581$  y un coeficiente ajustado  $R^2 = 0,9992$ . En este caso, la variable "x" representa la concentración de Trolox y la variable "y" representa el porcentaje de inhibición, como se puede apreciar en el Anexo 15. En la **Tabla 11** se presentan los resultados para la actividad antioxidante del extracto y microencapsulado de carotenoides.

**Tabla 11.** Resultados para la actividad antioxidante del extracto y del microencapsulado.

	<b>% de Inhibición</b>	<b>Equivalente a Trolox (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>
Extracto	40,03	223,093
Microencapsulado	38,00	211,836

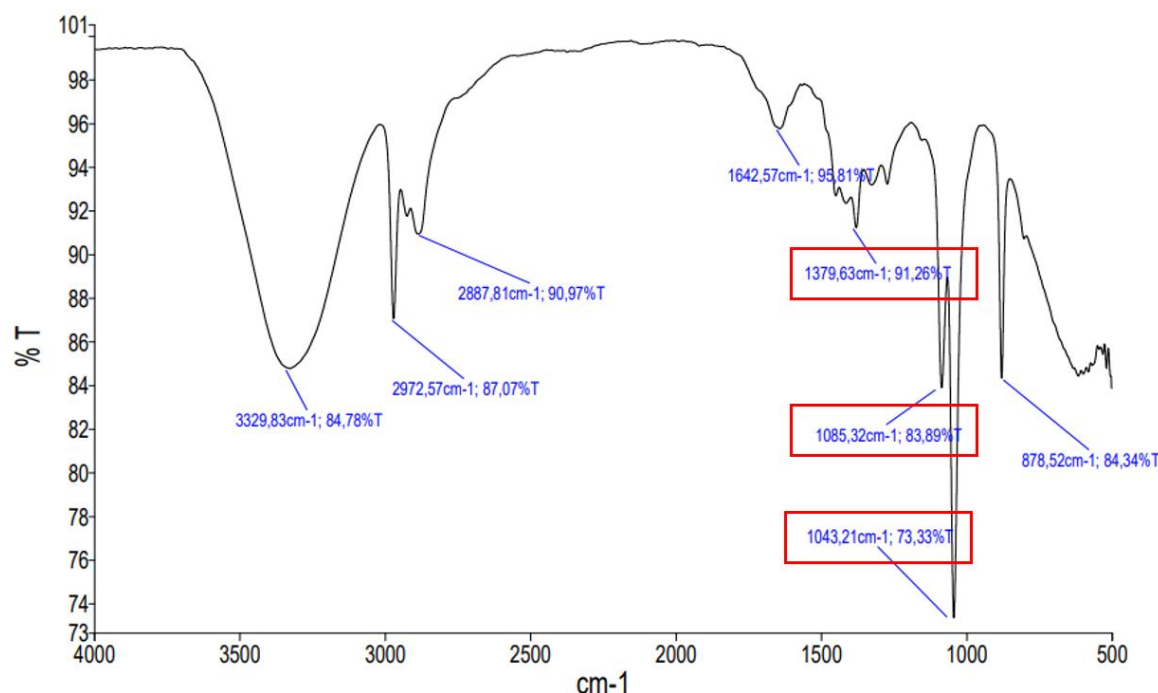
La diferencia entre la actividad antioxidante del extracto y del microencapsulado como se puede apreciar es baja. La actividad antioxidante disminuye durante el proceso de microencapsulación debido a las interacciones que se generan entre el componente bioactivo y el material de pared encapsulante, como lo detalla **Correa et al. (2019)**. Los antioxidantes presentes en la muestra son sometidos a condiciones físicas y químicas durante el proceso de microencapsulación, lo que puede dañarlos o degradarlos, razón por la cual disminuye su actividad. Además, la interacción entre los antioxidantes y la matriz polimérica puede generar una reacción química que provoca una disminución o incluso inactivación de la capacidad antioxidante.

Los porcentajes de inhibición obtenidos en el ensayo de actividad antioxidante por DPPH para el extracto y microencapsulado de carotenoides en este estudio son comparables con los obtenidos por **Pérez (2019)**, quien trabajó con la misma matriz vegetal y reportó un 60,23 % de inhibición del radical DPPH para el extracto y un 49,85 % de inhibición para el microencapsulado junto con 693.81  $\mu\text{mol/L}$  y 686,73  $\mu\text{mol/L}$  equivalentes a concentración de Trolox para el extracto y microencapsulado respectivamente. Por otro lado, **Shahzad et al. (2014)** reportaron porcentajes de inhibición de 44,65 % para un extracto a base de agua destilada y de 37,68 % para un extracto a base de metanol en la pulpa fresca de tomate de árbol. Esto demuestra que el tipo de solvente utilizado y si la matriz vegetal es fresca o seca tienen un impacto directo en el porcentaje de inhibición obtenido. Por lo tanto, se puede afirmar que el método que emplea DPPH es eficaz para la detección de actividad antioxidante presente en los desechos agroindustriales de tomate de árbol.

### 3.1.2.4. Espectroscopia infrarroja

La espectroscopia infrarroja por la transformada de Fourier (FT-IR) es una técnica que permite obtener información con respecto a la composición molecular de un compuesto de interés. Este análisis relaciona el porcentaje de transmitancia con la longitud de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), y los picos o bandas de absorción observados representan las vibraciones de los átomos que conforman la muestra cuando se somete a la región infrarroja del equipo (Mathias, 2018).

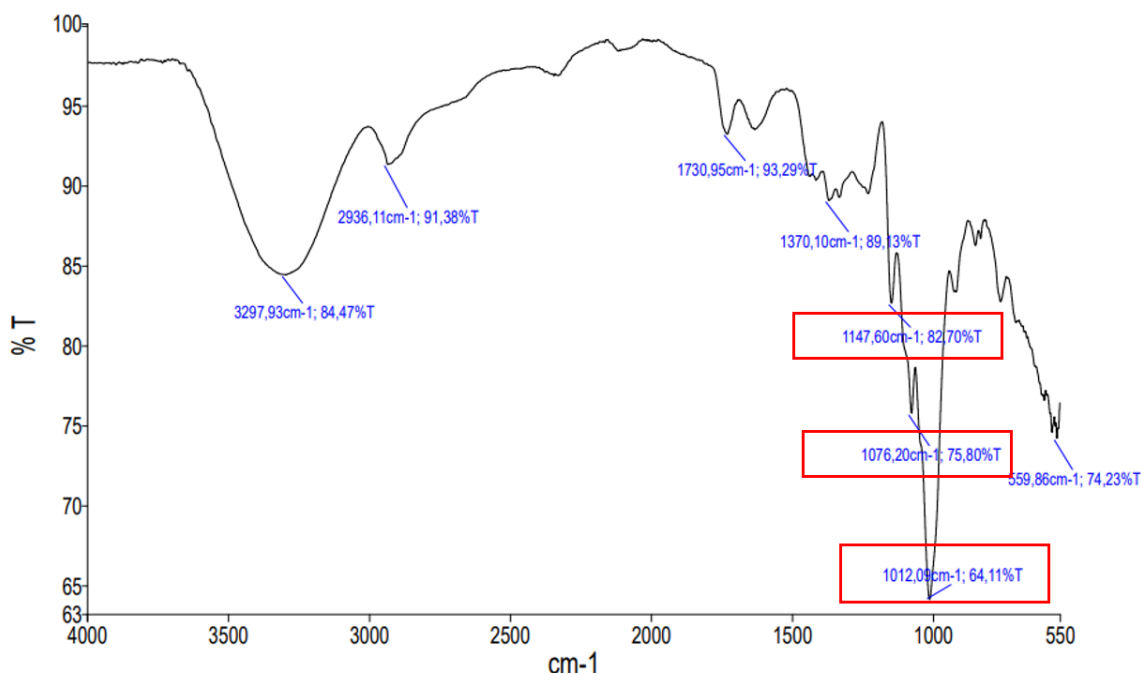
Se realizaron ensayos con espectroscopia infrarroja (FT-IR) para identificar la eficacia de la microencapsulación de carotenoides de manera cualitativa. En la **Figura 9** se observa la presencia de un pico prominente en el rango de  $3500$  a  $3000 \text{ cm}^{-1}$ , que según Neelamegam y Ezhilan (2012), es característico de los grupos hidroxilo (OH), esto se debe a que se empleó etanol como solvente para la extracción. Además, se pueden ver varios picos en el rango de  $1500$  a  $1000 \text{ cm}^{-1}$ , que corresponden al grupo de hidrocarburos insaturados que se caracterizan por tener dobles enlaces, según lo indicado por Charoensiri et al. (2009).



**Figura 9.** Espectros de resonancia infrarroja obtenidos para el extracto concentrado de carotenoides sin microencapsular.

En el espectro del extracto (**Figura 9**) en el rango de 3000-2850  $\text{cm}^{-1}$  se tiene al pico de 2972,57  $\text{cm}^{-1}$  a una transmitancia de 87,07% este es correspondiente a las vibraciones del estiramiento de los enlaces C-H de las cadenas alquílicas. El pico de 1642  $\text{cm}^{-1}$  se debe a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=C es los anillos conjugados, el pico de 1085,32  $\text{cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento del anillo aromático. Además, se muestra un pico de 1043,21  $\text{cm}^{-1}$  que es característico de las vibraciones de estiramiento del enlace C-C en los anillos del licopeno **Sarabandi et al. (2019)**. Se determina la presencia de carotenoides a través de la comparación de los resultados obtenidos en este estudio con los de **Pérez (2019)**, que muestra un valor de 1043,3  $\text{cm}^{-1}$  con una transmitancia del 43,86 %, y los de **Pazmiño et al. (2022)**, que mostraron un valor de 1044,26  $\text{cm}^{-1}$  con una transmitancia del 40,83 %.

Se presenta en la **Figura 10** el espectro con respecto a la mezcla polimérica de goma arábiga / maltodextrina que se empleó para microencapsular el componente bioactivo de interés.

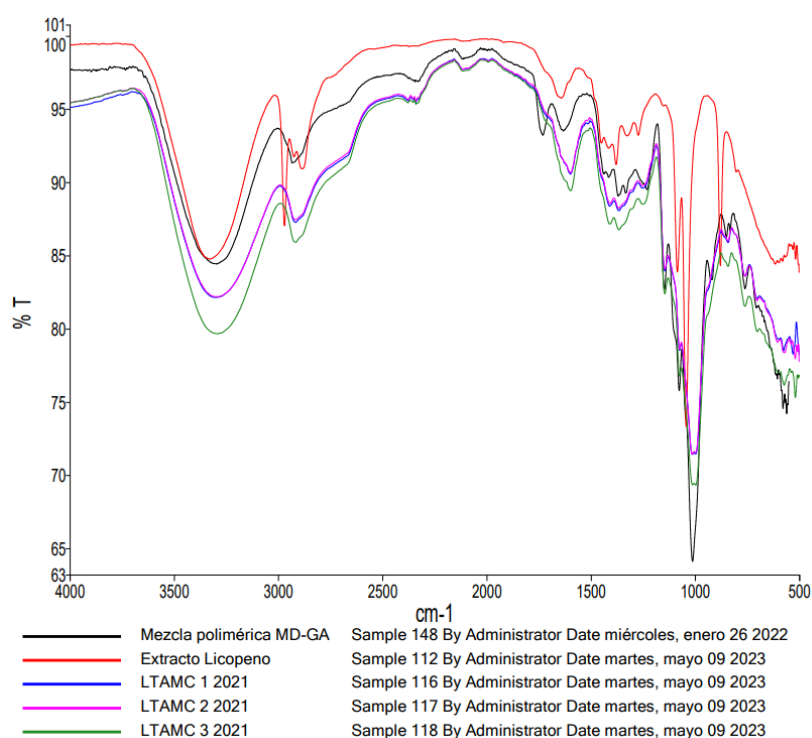


**Figura 10.** Mezcla polimérica conformada por goma arábiga/ maltodextrina.

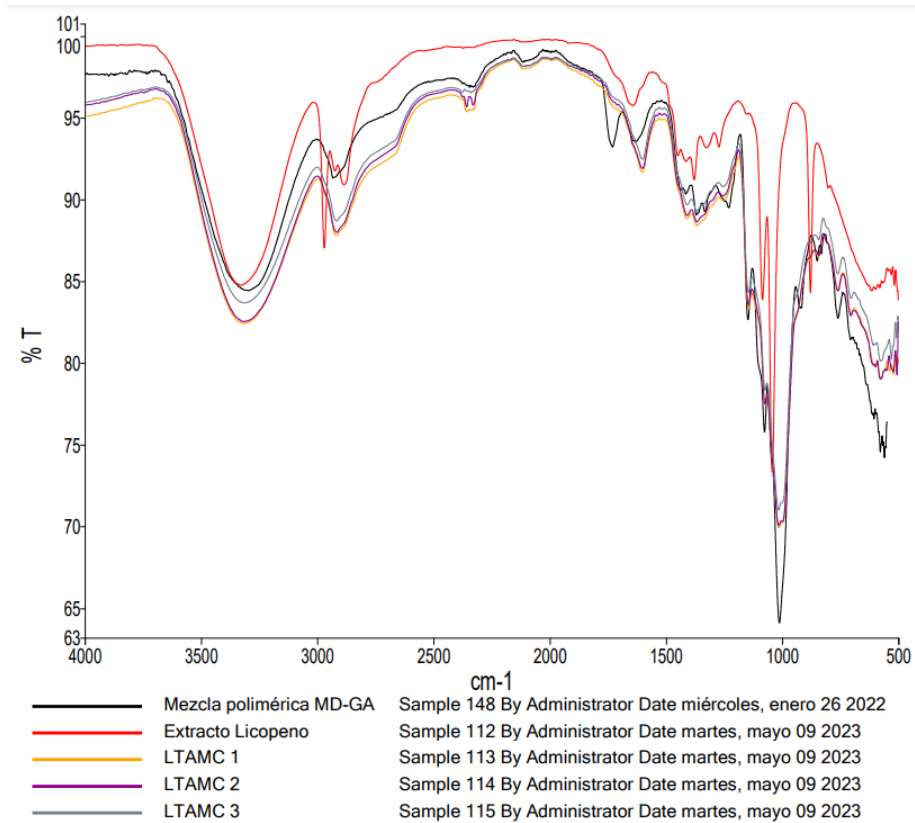
Se analizaron los grupos funcionales y los tipos de enlaces que se encuentran presentes en la estructura química de cada uno de los polímeros empleados en la mezcla polimérica. Se tiene la presencia del estiramiento del grupo hidroxilo en el pico de

3297,93  $\text{cm}^{-1}$ , estiramiento de los enlaces C- O en el pico 2936,11  $\text{cm}^{-1}$ , estiramiento del grupo carboxilo en el pico 1730,95  $\text{cm}^{-1}$ , la tensión que se genera entre la unión de C-O del grupo carboxilo se produce en el pico 1730,95  $\text{cm}^{-1}$ , en el pico de 1147,60  $\text{cm}^{-1}$  se presenta la tensión generada entre la unión de C-O del grupo hidroxilo y el pico de 1012,09  $\text{cm}^{-1}$  muestra el estiramiento del anillo aromático. Según estudios realizados por **Kang et al. (2019)** donde se analizaron espectros de cada uno de los polímeros por separado, muestran similitud en su composición química, lo que indica la similitud entre sus bandas como se observa en las figuras.

Se obtuvieron los espectros de los diferentes microencapsulados obtenidos en los años 2021 y 2023 que se aprecian en la **Figura 11** y **Figura 12** respectivamente.



**Figura 11.** Espectros de infrarrojo para los microencapsulados elaborados en el año 2021.



**Figura 12.** Espectros de infrarrojo para los microencapsulados elaborados en el año 2023.

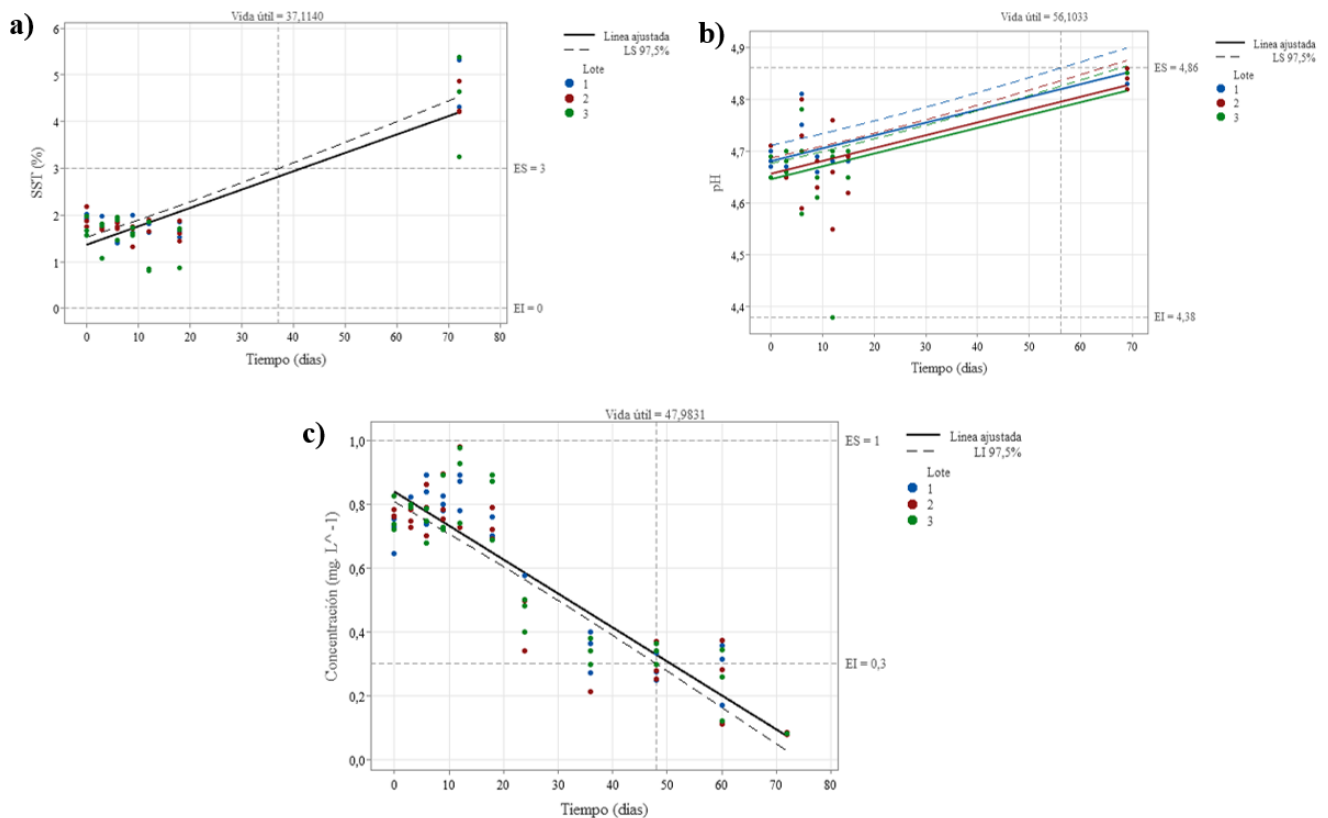
Se comprueba la eficacia de la microencapsulación en estos lotes debido a la similitud que se presenta entre las bandas de los microencapsulados, junto con las bandas de la matriz polimérica. Dentro de las **Figuras 11 y 12** se muestran la semejanza entre los picos de los microencapsulados y la matriz polimérica demostrando que el proceso de microencapsulación presentó una eficiencia alta. Y esta eficiencia se debe a la compatibilidad química generada entre los lotes de microencapsulados junto con la matriz polimérica **Al-Salami et al. (2014)**.

### **3.1.3. Determinación del tiempo de vida útil para el extracto y para los microencapsulados**

#### **3.1.3.1. Tiempo de vida útil para los extractos vegetales**

Con la ayuda del paquete estadístico Minitab, específicamente con el apartado que este posee para estudios de estabilidad se logró predecir el tiempo de vida útil para los extractos vegetales.

La FDA no presenta regulaciones establecidas para tasas de degradación de compuestos bioactivos (FDA, 2022), por lo que se establecieron diferentes tiempos de vida útil para los ensayos realizados con extractos de carotenoides. En la **Figura 13 a)** se observa que el ensayo para presencia de SST tuvo el menor tiempo de vida útil generado por el paquete estadístico. Esto se debe al inicio de la formación de sedimentos, en los cuales se encuentran sólidos solubles degradados que formaban parte del extracto en un principio y que han comenzado a degradarse debido a factores como la luz, la exposición al oxígeno y la humedad.



**Figura 13.** Pronóstico de vida útil para los extractos de carotenoides

**Nota:** a) pronóstico con relación a la medición de humedad y cantidad de SST presentes; b) pronóstico con relación a la medición del pH; c) pronóstico con relación a la medición de la concentración de carotenoides.

En cuanto al pH del extracto **Figura 13 b)**, se puede apreciar que el valor va incrementando con el pasar de los días, esto puede deberse a varias razones. Entre estas razones puede ser que se generaron reacciones de hidrólisis como es en el caso de los ésteres que forman parte de la estructura de carotenos, estos se hidrolizan en ácidos y alcoholes lo que aumenta el pH del extracto. También el aumento de pH puede deberse a una posible contaminación microbiana o procesos de oxidación (**Hashemi et al., 2019**). Se presenta además una estimación de tiempo de vida útil de 56 días aproximadamente.

El pronóstico del tiempo de vida útil del extracto en relación con la concentración de carotenoides presentes es de 47 días aproximadamente (**Figura 13 c)**). Sin embargo, en un estudio realizado por **Rodríguez et al. (2020)**, se recomienda un tiempo de vida útil de 21 días para tener la mayor cantidad de carotenoides presentes en un extracto

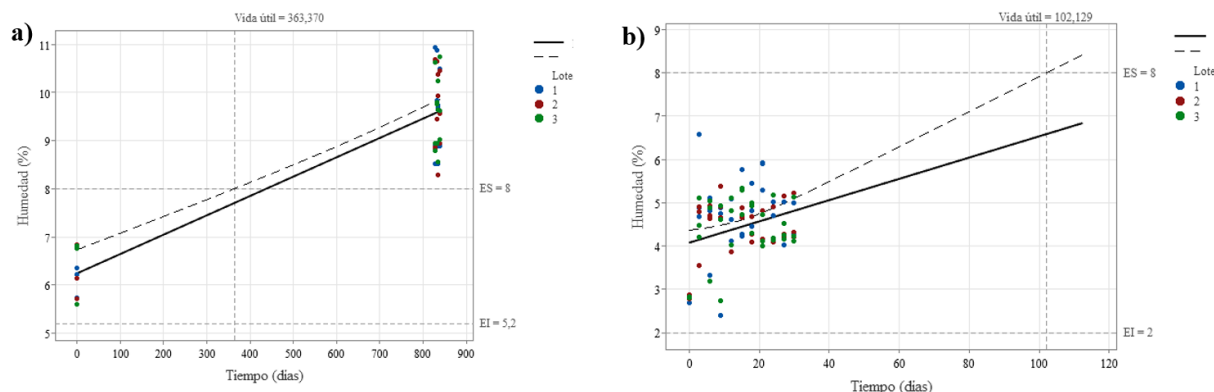


de pimiento rojo (*Capsicum annum*). Además, se sugiere almacenar los extractos a bajas temperaturas, eliminando casi por completo la presencia total de oxígeno, una disminución de la humedad y ausencia de luz para reducir la degradación de los carotenoides durante el almacenamiento. Durante los primeros 15 días de experimentación, casi no hay una variación apreciable, pero después de 69 días se reduce considerablemente la cantidad de carotenoides presentes.

Cabe resaltar que los extractos forman parte de los “productos intermedios” estos productos son sometidos a rigurosas pruebas antes de convertirse en productos terminados o productos que pueden salir al comercio como tal. En base a los resultados obtenidos se puede acoger el tiempo de 37 días como período de vida útil para el extracto, ya que en un tiempo menor se aseguran tanto la viabilidad como la validez del extracto porque se evita la degradación del compuesto bioactivo.

### **3.1.3.2. Tiempo de vida útil para los microencapsulados**

Finalmente, como se puede apreciar en la **Figura 14 a)** se presentan los pronósticos de vida útil en cuanto se refiere a humedad tanto para el microencapsulado elaborados en el año 2021 siendo este de 363 días aproximadamente, como para los lotes generados en el 2023 (**Figura 14 b)**) en donde el pronóstico fue de 102 días aproximadamente. Para establecer los límites permisibles de humedad en un microencapsulado en base a los estudios realizados por **Vera et al. (2019)**, se recomienda acoger valores que se encuentren por debajo del 10 %. Esto con el fin de evitar el posible crecimiento microbiano o la alteración de las propiedades organolépticas como olor o sabor del polvo microencapsulado.

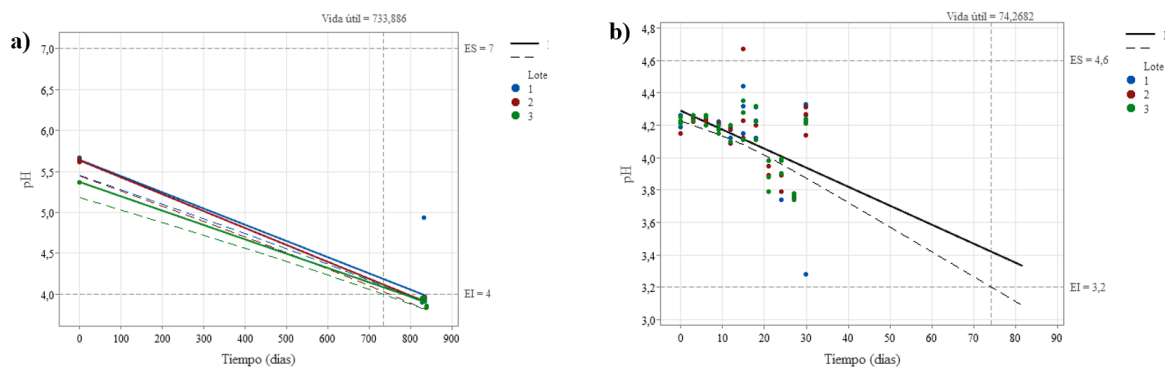


**Figura 14.** *Pronóstico de vida útil con respecto a la humedad de los lotes de microencapsulados producidos en el año 2021 y 2023.*

**Nota:** *a)* pronóstico con relación a la medición de humedad de los lotes generados en el año 2021; *b)* pronóstico con relación a la medición de humedad de los lotes generados en el año 2023.

En la **Figura 15** se puede observar las predicciones de tiempo de vida útil con relación a mediciones de pH, teniendo que para los lotes de microencapsulados generados en el año 2021 (**Figura 15 a)**) la predicción muestra un tiempo de 733 días aproximadamente, mientras que para los lotes del año 2023 (**Figura 15 b)**) un aproximado de 74 días. **Saqueti et al. (2021)**, reporta que un microencapsulado puede permanecer estable hasta incluso por más de 180 días. Además, detalla que en un estudio de estabilidad la medición de pH de los microencapsulados es necesario, ya que, algunos materiales que conforman el microencapsulado pueden ser sensibles al pH del compuesto bioactivo encapsulado y por tanto son propensos a degradarse o desestabilizarse en condiciones ácidas.

Otra de las causas para determinar el tiempo de vida útil a través de mediciones de pH es la interacción que el microencapsulado presenta con el medio ambiente, es decir, si el compuesto que se microencapsuló es sensible a la oxidación o no (**Choudhury et al., 2021**).



**Figura 15.** Pronóstico de vida útil con respecto al pH de los lotes de microencapsulados producidos en el año 2021 y 2023.

**Nota:** a) pronóstico con relación a la medición de pH de los lotes generados en el año 2021;  
 b) pronóstico con relación a la medición de pH de los lotes generados en el año 2023.

En base a los ensayos y los tiempos de vida útil generados para este apartado, se acoge un tiempo de vida útil de 74 días aproximadamente para los lotes elaborados en el presente año. Debido a que, si se realiza una comparación con los microencapsulados elaborados en el año 2021 la humedad se encuentra elevada y el nivel de pH va disminuyendo conforme van pasando los días. De esta forma se afianza la seguridad de los microencapsulados.

A continuación, se han pronosticado diferentes intervalos de confianza (IC), para lograr adquirir la mayor precisión posible en cada uno de los datos reportados y generados para cada una de las diferentes pruebas realizadas al extracto, siendo estos:

**Tabla 12.** IC para el extracto de carotenoides.

Parámetro	IC
Cantidad de SST	(0,227; 3,554) (Anexo 16)
pH	(4,505; 4,898) (Anexo 17)
Concentración de carotenoides	(0,222;3, 257) (Anexo 18)

Los intervalos de confianza (IC) generados por las diferentes pruebas realizadas a los microencapsulados elaborados en el año 2021 se reflejan en la **Tabla 13**.

**Tabla 13.** *IC para microencapsulados elaborados en el año 2021.*

<b>Parámetro</b>	<b>IC</b>
% de humedad	(5,219; 12,629) (Anexo 19)
pH	(2,640; 5,881) (Anexo 20)

Los intervalos de confianza (IC) generados por las diferentes pruebas realizadas a los microencapsulados elaborados en el año 2023 se reflejan en la **Tabla 14.**

**Tabla 14.** *IC para microencapsulados elaborados en el año 2023.*

<b>Parámetro</b>	<b>IC</b>
% de humedad	(2,666; 6,226) (Anexo 21)
pH	(3,655; 4,574) (Anexo 22)

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

- Se evaluó el período de vida útil de los microencapsulados obtenidos a partir de un extracto rico en carotenoides provenientes de desechos agroindustriales de tomate de árbol, en donde se demostró que a los 37 días se mantiene estable para los ensayos de: humedad, pH, actividad antioxidante y eficiencia de microencapsulación a través de espectroscopía infrarroja.
- Se obtuvieron tres lotes de extractos ricos en carotenoides a partir de desechos agroindustriales de tomate de árbol, con una concentración de carotenoides de  $0,62 \pm 0,129$  mg/L, y una eficiencia de extracción empleando etanol como solvente de  $16,84 \pm 0,586$  mg/kg.
- Se obtuvieron microencapsulados a partir del extracto rico en carotenoides empleando secado por aspersión, con un rendimiento del 64,67 % y una eficiencia de microencapsulación superior al 95 %, corroborándose la misma a través de la espectroscopia por la Transformada de Fourier (FTIR), donde se muestra el enmascaramiento del componente bioactivo.
- Se analizaron los indicadores fisicoquímicos del extracto rico en carotenoides durante 15 días obteniendo que la cantidad de SST se mantuvo entre  $1,43 \pm 0,501$  y  $1,90 \pm 0,118$  %, el pH entre  $3,8 \pm 0,1$  y  $4,0 \pm 0,1$ , y la concentración de carotenoides de  $0,56 \pm 0,010$  a  $0,66 \pm 0,003$  mg/L, corroborando que no se presentaron diferencias significativas entre las medias de los tres lotes en este tiempo.
- Se analizaron los indicadores fisicoquímicos del microencapsulado durante 30 días de experimentación, midiendo el pH, el cual se mantuvo entre  $4,19 \pm 0,015$  y  $4,29 \pm 0,006$  y el porcentaje de humedad no superó el 3 % corroborando que no se presentaron diferencias significativas entre las medias de los tres lotes en este tiempo.
- Mediante el ensayo DPPH, empleando Trolox como antioxidante de referencia, se corroboró que los extractos y microencapsulados mantuvieron actividad

antioxidante hasta 15 y 30 días, se presentó un porcentaje de inhibición de 40,03 % para el extracto, y un 38 % para microencapsulados estos valores fueron equivalentes a una concentración de Trolox de 223,093 y 211,836  $\mu\text{mol/L}$  respectivamente.

- Se determinó el tiempo de vida útil para el extracto utilizando el paquete estadístico Minitab, obteniendo un tiempo de 39 días aproximadamente para la cantidad de SST en donde los valores se mantienen en el 0 a 3 %, utilizando frascos color ámbar para almacenar el extracto.
- Se determinó el tiempo de vida útil para el microencapsulado utilizando el paquete estadístico Minitab, obteniendo un tiempo de 74 días aproximadamente en donde el pH se mantiene entre 3,2 y 4,6 utilizando fundas de tipo Ziploc de aluminio.

#### **4.2.Recomendaciones**

- Realizar estudios de estabilidad en tiempo acelerado de carotenoides provenientes de cáscaras de tomate de árbol para contrastar con los datos obtenidos.
- Realizar ensayos de actividad antioxidante *in vivo*, para demostrar la eficiencia de esta actividad.
- Realizar cromatografía HPLC para corroborar la presencia de carotenoides en el extracto.
- Corroborar la estabilidad del extracto y microencapsulado empleado otro tipo de frascos de almacenamiento como, por ejemplo: frascos color marrón oscuros, opacos o de vidrio coloreado,
- Implementar controles microbiológicos dentro del extracto.
- Desarrollar procesos de extracción empleando otros solventes como: metanol, acetona o el acetato de etilo.

## MATERIALES DE REFERENCIA

- Abdalla, A. (2021). Knowledge, attitude, and practice towards therapeutic lifestyle changes in the management of hypertension in Khartoum State. *Cardiovascular Journal of Africa*, 32(4), 26–31. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2021-011>.
- Al-Salami, H., Mooranian, A., Negrulj, R., Chen-Tan, N., Al-Sallami, H., Fang, Z., Mukkur, T., Mikov, M., Golocorbin-Kon, S., Watts, G., Matthews, V., Arfuso, F., & Fakhoury, M. (2014). Microencapsulation as a novel delivery method for the potential antidiabetic drug, Probuco. *Drug Design, Development and Therapy*, 61(8), 1221-1230. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S67349>.
- ARCSA. (2019). *Instructivo descriptivo de establecimientos sujetos a vigilancia y control sanitario*. [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/01/ARCSA-DE-028-2016-YMIH\\_NORMATIVA-SANITARIA-PARA-CONTROL-DE-SUPLEMENTOS-ALIMENTICIOS.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/01/ARCSA-DE-028-2016-YMIH_NORMATIVA-SANITARIA-PARA-CONTROL-DE-SUPLEMENTOS-ALIMENTICIOS.pdf).
- ARCSA. (2021). *Normativa Sanitaria para Control de Suplementos Alimenticios*. [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/01/ARCSA-DE-028-2016-YMIH\\_NORMATIVA-SANITARIA-PARA-CONTROL-DE-SUPLEMENTOS-ALIMENTICIOS.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/01/ARCSA-DE-028-2016-YMIH_NORMATIVA-SANITARIA-PARA-CONTROL-DE-SUPLEMENTOS-ALIMENTICIOS.pdf).
- Bian, Q., Gao, S., Zhou, J., Qin, J., Taylor, A., Johnson, E. J., Tang, G., Sparrow, J. R., Gierhart, D., & Shang, F. (2012). Lutein and zeaxanthin supplementation reduces photooxidative damage and modulates the expression of inflammation-related genes in retinal pigment epithelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(6), 1298–1307. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.06.024>.
- Bin, M., Nadeem, M., Gilani, S., Mubeen, B., Ullah, I., Alzarea, S., Ghoneim, M., Alshehri, S., Al-Abbasi, F., & Kazmi, I. (2022). Lycopene: A Natural Arsenal in the War against Oxidative Stress and Cardiovascular Diseases. *Antioxidants*, 11(2), 232. <https://doi.org/10.3390/antiox11020232>.
- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírseada, P., Marín, M., & 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>.
- Calderón, M., & Ponce, E. (2022). The Role of Microencapsulation in Food Application. *Molecules*, 27(5), 1499. <https://doi.org/10.3390/molecules27051499>.
- Charoensiri, R., Kongkachuichai, R., Suknicom, S., & Sungpuag, P. (2009). Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. *Food Chemistry*, 113(1), 202–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.074>.
- Cheng, W., Xian, F., Zhou, Z., Hu, K., & Gao, J. (2023). Solubility and Stability of Carotenoids in Ammonium- and Phosphonium-Based Ionic Liquids: Effect of Solvent Nature, Temperature and Water. *Molecules*, 28(8), 3618. <https://doi.org/10.3390/molecules28083618>.
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426–442. <https://doi.org/10.1002/fft2.94>.
- Correa, L., Santos, D., Brito, L., Moldão, M., & Alves, V. (2022). Storage Stability and In Vitro Bioaccessibility of Microencapsulated Tomato (*Solanum Lycopersicum L.*) Pomace Extract. *Bioengineering*, 9(7), 311. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9070311>.
- Correa, L., Lourenço, S., Duarte, D., Moldão, M., & Alves, V. (2019). Microencapsulation of Tomato (*Solanum lycopersicum L.*) Pomace Ethanolic Extract by Spray Drying: Optimization of Process Conditions. *Applied Sciences*, 9(3), 612. <https://doi.org/10.3390/app9030612>.
- Da Silva, M., Nora, L., Cantillano, R., Paese, K., Guterres, S., Pohlmann, A., Costa, T., & Rios, A. (2016). The Production, Characterization, and the Stability of Carotenoids Loaded in Lipid-Core Nanocapsules. *Food and Bioprocess Technology*, 9(7), 1148–1158. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1704-3>.
- Derradji, F., Djamai, R., & Cadot, Y. (2014). Antioxidant capacity, total phenolic, carotenoid, and vitamin C contents of five table grape varieties from Algeria and their correlations. *OENO One*, 48(2), 153. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2014.48.2.1564>.



- Dhakal, S., & He, J. (2020). Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: A review. *Food Research International*, 137, 109–326. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109326>
- Diep, T., Pook, C., & Yoo, M. (2020). Phenolic and Anthocyanin Compounds and Antioxidant Activity of Tamarillo (*Solanum betaceum Cav.*). *Antioxidants*, 9(2), 169. <https://doi.org/10.3390/antiox9020169>.
- Diep, T., Pook, C., Rush, E., & Yoo, M. J. Y. (2020). Quantification of Carotenoids,  $\alpha$ -Tocopherol, and Ascorbic Acid in Amber, Mulligan, and Laird's Large Cultivars of New Zealand Tamarillos (*Solanum betaceum Cav.*). *Foods*, 9(6), 769. <https://doi.org/10.3390/foods9060769>.
- Dwyer, J., Coates, P., & Smith, M. (2018). Dietary Supplements: Regulatory Challenges and Research Resources. *Nutrients*, 10(1), 41. <https://doi.org/10.3390/nu10010041>.
- Ecograins. (2017). *Características del Tomate de Árbol*. TOMATE DE ARBOL (*Cyphomandra Betacea Cav.Send*). <https://ecograins.wordpress.com/2014/05/02/caracteristicas-del-tomate-de-arbol/>
- EFSA. (2018). *Food supplements*. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-supplements>
- EMA. (2003). *ICH Q1A (R2) Stability testing of new drug substances and drug products - Scientific guideline*. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1a-r2-stability-testing-new-drug-substances-drug-products-scientific-guideline>
- ESPAC. (2017). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac\\_2017/Presentacion\\_Principales\\_Resultados\\_ESPAC\\_2017.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2017/Presentacion_Principales_Resultados_ESPAC_2017.pdf).
- Evers, A., Clénet, D., & Pfeiffer, S. (2022). Long-Term Stability Prediction for Developability Assessment of Biopharmaceutics Using Advanced Kinetic Modeling. *Pharmaceutics*, 14(2), 375. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020375>.

- FDA. (2022). *Questions and Answers on Dietary Supplements. Information for Consumers on Using Dietary Supplements*. <https://www.fda.gov/food/information-consumers-using-dietary-supplements/questions-and-answers-dietary-supplements>
- Food Standards Agency. (2018). *Food supplements. What Food Supplements Are and What You Need to Do as a Business to Sell Them*. <https://www.food.gov.uk/business-guidance/food-supplements>
- Fратиани, A., Adiletta, G., Di Matteo, M., Panfili, G., Niro, S., Gentile, C., Farina, V., Cinquanta, L., & Corona, O. (2020). Evolution of Carotenoid Content, Antioxidant Activity and Volatiles Compounds in Dried Mango Fruits (*Mangifera Indica L.*). *Foods*, 9(10), 1424. <https://doi.org/10.3390/foods9101424>.
- García, J., Giuffrida, D., Dugo, P., Mondello, L., & Osorio, C. (2018). Development and characterisation of carotenoid-rich microencapsulates from tropical fruit by-products and yellow tamarillo (*Solanum betaceum Cav.*). *Powder Technology*, 339, 702–709. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.08.061>.
- Gavilanes, M. (2022). *Estudio determina las propiedades nutricionales del tomate de árbol*. Unidad de Salud. <https://www.eltiempo.com/salud/estas-son-las-propiedades-nutricionales-del-tomate-de-arbol-664629>.
- Giannakourou, M., & Taoukis, P. (2021). Effect of Alternative Preservation Steps and Storage on Vitamin C Stability in Fruit and Vegetable Products: Critical Review and Kinetic Modelling Approaches. *Foods*, 10(11), 2630. <https://doi.org/10.3390/foods10112630>.
- González, O., Ramirez, I., Ramirez, B., O'Connell, P., Ballesteros, M., Torrado, J., & Serrano, D. (2022). Drug Stability: ICH versus Accelerated Predictive Stability Studies. *Pharmaceutics*, 14(11), 2324. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112324>.
- Goula, A., & Adamopoulos, K. G. (2005). Stability of lycopene during spray drying of tomato pulp. *LWT - Food Science and Technology*, 38(5), 479–487. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.020>.
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med*,

15, 57–60. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-558X2015000100008&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2015000100008&lng=es&tlng=es).

Hashemi, S., Pourmohammadi, K., Gholamhosseinpour, A., Ferreira, D., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Fat-soluble vitamins. In *Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds* (pp. 267–289). Redding Morse. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814174-8.00009-3>.

Iturriaga, L. (2014). *Advances in Food Science and Nutrition. Canadá*. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/uta-ebooks/reader.action?docID=1574374&query=antioxidant+activity>

Jordana, E., Martró, E., & Ausina, V. (2012). La espectrometría de masas en el laboratorio de microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(10), 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.01.012>.

Jyothi, N., Prasanna, P., Sakarkar, S., Prabha, K., Ramaiah, P., & Srawan, G. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>.

Kang, Y., Lee, Y., Kim, Y., & Chang, Y. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272, 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>.

Ketnawa, S., Reginio Jr., F. C., Thuengtung, S., & Ogawa, Y. (2022). Changes in bioactive compounds and antioxidant activity of plant-based foods by gastrointestinal digestion: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(17), 4684–4705. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1878100>.

Kopsell, D. (2006). Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. *Trends in Plant Science*, 11(10), 499–507. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.08.006>.

Kultys, E., & Kurek, M. A. (2022). Green Extraction of Carotenoids from Fruit and Vegetable Byproducts: A Review. *Molecules*, 27(2), 518. <https://doi.org/10.3390/molecules27020518>.

- Kumar, S., Bhandari, C., Sharma, P., & Agnihotri, N. (2018). Role of Piperine in Chemoresistance. In B. Alok & B. Bharat (Eds.), *Role of Nutraceuticals in Chemoresistance to Cancer* (pp. 259–286). Academic Press. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812373-7.00013-9>.
- Kwatra, B. (2020). A review on potential properties and therapeutic applications of lycopene. *International Journal of Medical and Biomedical Studies*, 4(4), 33–44. <https://doi.org/10.32553/ijmbs.v4i4.1081>.
- Lakkis, J. (2016). *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems* (2nd ed.). <https://ebookcentral.proquest.com/lib/uta-ebooks/reader.action?docID=4406049&query=Microencapsulation+of+black+pepper+oleores>
- LeDoux, M., Appelhans, K., Braun, L., Dziejczak, D., Jennings, S., Liu, L., Osiecki, H., Wyszumiala, E., & Griffiths, J. (2015). A quality dietary supplement: before you start and after it's marketed—a conference report. *European Journal of Nutrition*, 54(S1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0827-4>.
- Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2014). Improving Carotenoid Extraction from Tomato Waste by Pulsed Electric Fields. *Frontiers in Nutrition*, 1, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2014.00012>.
- Lugo, N., Colinas, T., Bautista, C., Vázquez, T., & Lozoya, H. (2014). Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5, 1029–1039. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i6.887>.
- Luo, Y., Jiang, Z., Gan, Y., Liang, J., & Ao, W. (2021). Evaporation and combustion characteristics of an ethanol fuel droplet in a DC electric field. *Journal of the Energy Institute*, 98, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2021.07.002>.
- Made, A., Semadi, N., Wrasati, L., & Gunam, I. (2021). *Determination of the Shelf Life of Microencapsulated Extract of Microalgae NannochloropsisSp with Accelerated Shelf-Life Testing Method*. 25(5), 2323–2331. [https://www.researchgate.net/profile/Ida-Gunam/publication/351478272\\_Determination\\_of\\_the\\_Shelf\\_Life\\_of\\_Microencapsulated\\_Extract\\_of\\_Microalgae\\_NannochloropsisSp\\_with\\_Accelerated\\_Shelf-Life\\_Te](https://www.researchgate.net/profile/Ida-Gunam/publication/351478272_Determination_of_the_Shelf_Life_of_Microencapsulated_Extract_of_Microalgae_NannochloropsisSp_with_Accelerated_Shelf-Life_Te)

sting\_Method/links/609a206d299bf1ad8d90bb70/Determination-of-the-Shelf-Life-of-Microencapsulated-Extract-of-Microalgae-NannochloropsisSp-with-Accelerated-Shelf-Life-Testing-Method.pdf

Maraiki, F., Farooq, F., & Ahmed, M. (2016). Eliminating the use of intravenous glass bottles using a FOCUS-PDCA model and providing a practical stability reference guide. *International Journal of Pharmacy Practice*, 24(4), 271–282. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12245>.

Marcial, L., Martínez, A., León, J., Suárez, A., & Viera, W. (2023). *Desarrollo del fruto en cultivares de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.)*. 1, 1–10. <http://ceaa.esPOCH.edu.ec:8080/revista.perfiles/>

Mathias, J. (2018). *A Beginner's Guide to FTIR Analysis: Interpreting & Analyzing Results*. <https://www.innovatechlabs.com/newsroom/1882/interpreting-analyzing-ftir-results/#:~:text=The%20peaks%2C%20which%20are%20also,4%2C000%20to%20400%20cm%2D1>

Meléndez, A., Mapelli, P., Hornero, D., & Vicario, I. (2019). CHAPTER 1. Structures, Nomenclature and General Chemistry of Carotenoids and Their Esters. In A. Mercadante (Ed.), *QUÍMICA, FUNCIÓN Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS Ésteres de carotenoides en alimentos: propiedades físicas, químicas y biológicas* (pp. 1–50). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781788015851-00001>.

Mourtinho, A. (2007). *Microencapsulación de nanopartículas de quitosano para la administración pulmonar de macromoléculas terapéuticas* (Kumar Ed); 1st ed. (pp. 123-292). Handbook of Particulate Drug Delivery. [https://books.google.com.ec/books?id=Mt0apW0xof8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=Mt0apW0xof8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Munteanu, I., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.

Neelamegam, R., & Ezhilan, B. (2012). GC-MS analysis of phytochemicals in the ethanol extract of *Polygonum chinense* L. *Pharmacognosy Research*, 4(1), 11. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.91028>.

- Norshazila, S., Koy, C., Rashidi, O., Ho, L., Azrina, I., Nurul, R., & Zarinah, Z. (2017). The Effect of Time, Temperature and Solid to Solvent Ratio on Pumpkin Carotenoids Extracted Using Food Grade Solvents. *Sains Malaysiana*, 46(02), 231–237. <https://doi.org/10.17576/jsm-2017-4602-07>.
- Pazmiño, D., Fernández, D., López, O., & Iraizoz, A. (2022). Evaluación de diferentes combinaciones de polímeros en la microencapsulación de licopenos procedentes de residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Bionatura*, 7(2), 1–6. <https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.02.29>.
- Pérez, C. (2019). *Extracción y microencapsulación de licopenos provenientes de residuos agroindustriales del tomate de árbol (Solanum betaceum)*. [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29416/1/BQ 178.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29416/1/BQ%20178.pdf).
- Pinto, M., García, P., & Camacho, D. (2007). Efecto del ácido cítrico sobre la madurez del tomate de árbol. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 24(2), 290–295. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-78182007000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182007000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Ramirez, K. (2022). *Estos son los increíbles beneficios del tomate de árbol que no conocías*. Mui Kitchen. <https://mui.kitchen/noticias/Estos-son-los-increibles-beneficios-del-tomate-de-arbol-que-no-conocias-20221212-0014.html>
- Rocha, G., Fávoro, C., & Grosso, C. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.01.001>.
- Rocha, G., Favaro, C., & Grosso, C. (2013). Morphology, Stability, and Application of Lycopene Microcapsules Produced by Complex Coacervation. *Journal of Chemistry*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/982603>.
- Rodríguez, E., Sánchez, M., & Olmedilla, B. (2020). Assessment of carotenoid concentrations in red peppers (*Capsicum annuum*) under domestic refrigeration for three weeks as determined by HPLC-DAD. *Food Chemistry: X*, 6, 100092. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100092>.
- Royal Botanic Gardens. (2013). *The Plant List, Version 1.1*. <http://www.theplantlist.org/>

- Rubashvili, I., Tsitsagi, M., Ebralidze, K., Tsitsishvili, V., Eprikashvili, L., Chkhaidze, M., & Zautashvili, M. (2018). Extraction and Analysis of the Major Carotenoids of Agro-Industrial Waste Materials Using Sequential Extraction Techniques and High-Performance Liquid Chromatography. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 13(2), 1–14. <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.
- Salazar, G. (2023). *Guía ICH Q1B: La importancia de la evaluación de la FOTOESTABILIDAD en productos farmacéuticos*. <https://www.linkedin.com/pulse/gu%C3%ADa-ich-q1b-la-importancia-de-evaluaci%C3%B3n-en-salazar-rondon/>
- Saqueti, B., Alves, E., Castro, M., dos Santos, P., Sinosaki, N., Senes, C., Visentainer, J., & Santos, O. (2021). Shelf Life of Bioactive Compounds from Acerola Pulp (*Malpighia spp.*) through Freeze-Drying and Microencapsulation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 32, 1–8. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210096>.
- Sepúlveda, C., & Zapata, J. (2019). Efecto de la Temperatura, el pH y el Contenido en Sólidos sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante del Extracto de Bixa orellana L. *Información Tecnológica*, 30(5), 57–66. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500057>.
- Shahzad, T., Ahmad, Y., Choudry, S., Said, M., & Khan, M. (2014). DPPH free radical scavenging activity of tomato, cherry tomato and watermelon: lycopene extraction, purification and quantification. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 223–228. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol6Suppl2/8142.pdf>
- Silva, Y., Ferreira, T., Celli, G., & Brooks, M. (2019). Optimization of Lycopene Extraction from Tomato Processing Waste Using an Eco-Friendly Ethyl Lactate–Ethyl Acetate Solvent: A Green Valorization Approach. *Waste and Biomass Valorization*, 10(10), 2851–2861. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0317-7>.
- Soomro, R., Ahmed, M. J., Memon, N., & Khan, H. (2008). A Simple and Selective Spectrophotometric Method for the Determination of Trace Gold in Real, Environmental, Biological, Geological and Soil Samples Using Bis (Salicylaldehyde) Orthophenylenediamine. *Analytical Chemistry Insights*, 3, 75–90. <https://doi.org/10.4137/ACI.S977>.

- Strati, I., & Oreopoulou, V. (2011). Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(1), 23–29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02496.x>.
- Tamburini, E., Costa, S., Rugiero, I., Pedrini, P., & Marchetti, M. (2017). Quantification of Lycopene,  $\beta$ -Carotene, and Total Soluble Solids in Intact Red-Flesh Watermelon (*Citrullus lanatus*) Using On-Line Near-Infrared Spectroscopy. *Sensors*, *17*(4), 746. <https://doi.org/10.3390/s17040746>.
- Tierney, A., Rumble, C., Billings, L., & George, E. (2020). Effect of Dietary and Supplemental Lycopene on Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Advances in Nutrition*, *11*(6), 1453–1488. <https://doi.org/10.1093/advances/nmaa069>.
- Tonon, R., Grosso, C., & Hubinger, M. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, *44*(1), 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.018>.
- Torun, M., Dincer, C., Topuz, A., Sahin–Nadeem, H., & Ozdemir, F. (2015). Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(5), 2797–2805. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1308-8>.
- Urbina, W., Fernández, D., & Iraizoz, A. (2020). Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Bionatura*, *5*(4), 1356–1362. <https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.04.13>.
- Vera, M., Dutta, B., Mercer, D., MacLean, H., & Touchie, M. (2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *88*, 484–496. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.006>.
- Verma, M., Shakya, S., Kumar, P., Madhavi, J., Murugaiyan, J., & Rao, M. (2021). Trends in packaging material for food products: historical background, current scenario, and



future prospects. *Journal of Food Science and Technology*, 58(11), 4069–4082.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-021-04964-2>.

Viera, W., Samaniego, I., Camacho, D., Habibi, N., Ron, L., Sediqui, N., Álvarez, J., Viteri, P., Sotomayor, A., Merino, J., Vásquez, W., & Brito, B. (2022). Phytochemical Characterization of a Tree Tomato (*Solanum betaceum Cav.*) Breeding Population Grown in the Inter-Andean Valley of Ecuador. *Plants*, 11(3), 268.  
<https://doi.org/10.3390/plants11030268>.

Wu, S., Liu, Y., Michalek, J., Mesa, R., Parma, D., Rodriguez, R., Mansour, A., Svatek, R., Tucker, T., & Ramirez, A. (2020). Carotenoid Intake and Circulating Carotenoids Are Inversely Associated with the Risk of Bladder Cancer: A Dose-Response Meta-analysis. *Advances in Nutrition*, 11(3), 630–643.  
<https://doi.org/10.1093/advances/nmz120>.

Yu, J., Liu, X., Zhang, L., Shao, P., Wu, W., Chen, Z., Li, J., & Renard, C. (2022). An overview of carotenoid extractions using green solvents assisted by Z-isomerization. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 145–160.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.009>.

## ANEXOS

### Anexo 1. Rendimiento de la microencapsulación

Peso inicial = 189.01 g

Peso final = 122,61 g

$$\% \text{ rendimiento de microencapsulación} = \frac{\text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

$$\% \text{ rendimiento de microencapsulación} = \frac{122,61 \text{ g}}{189,01 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{ rendimiento de microencapsulación} = 64,87$$

**Anexo 2.** Eficiencia de microencapsulación Lote 1 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.

LOTE 1		
	Agua	Etanol
Absorbancia a 515 nm	0,77	0,04
	0,77	0,04
	0,77	0,04
Promedio * F. D	7,73	0,36
Concentración ( $mg \cdot L^{-1}$ )	19,56	0,92
% Eficiencia		95,30

**Anexo 3.** Eficiencia de microencapsulación Lote 2 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.

LOTE 2		
	Agua	Etanol
Absorbancia a 515 nm	0,83	0,04
	0,84	0,04
	0,85	0,04
Promedio * F. D	8,40	0,37
Concentración ( $mg \cdot L^{-1}$ )	21,27	0,93
% Eficiencia		95,63

**Anexo 4.** Eficiencia de microencapsulación Lote 3 del año 2023 con un factor de dilución (F. D) 1:10.

<b>LOTE 3</b>		
	<b>Agua</b>	<b>Etanol</b>
Absorbancia a 515 nm	0,87	0,04
	0,88	0,04
	0,89	0,04
Promedio * F. D	8,81	0,37
Concentración ( $mg \cdot L^{-1}$ )	22,32	0,93
% Eficiencia		95,83

**Anexo 5.** Tabla de la evaluación de la cantidad de SST presentes en los extractos.

<b>Lote</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>SST (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>
1	0	98,10 ± 0,118	1,90 ± 0,118	4,69 ± 0,006	0,66 ± 0,003
	3	98,19 ± 0,147	1,81 ± 0,147	4,67 ± 0,025	0,60 ± 0,003
	6	98,11 ± 0,101	1,89 ± 0,101	4,68 ± 0,015	0,66 ± 0,090
	9	98,23 ± 0,215	1,77 ± 0,215	4,63 ± 0,025	0,60 ± 0,003
	12	98,22 ± 0,108	1,78 ± 0,108	4,63 ± 0,190	0,61 ± 0,006
	15	98,27 ± 0,126	1,73 ± 0,126	4,67 ± 0,042	0,57 ± 0,018
2	0	98,17 ± 0,223	1,83 ± 0,223	4,69 ± 0,015	0,64 ± 0,007
	3	98,23 ± 0,046	1,77 ± 0,046	4,68 ± 0,020	0,64 ± 0,008
	6	98,32 ± 0,188	1,68 ± 0,188	4,68 ± 0,025	0,62 ± 0,016
	9	98,40 ± 0,231	1,60 ± 0,231	4,64 ± 0,023	0,57 ± 0,014
	12	98,16 ± 0,027	1,84 ± 0,027	4,68 ± 0,017	0,57 ± 0,017
	15	98,57 ± 0,501	1,43 ± 0,501	4,68 ± 0,026	0,56 ± 0,010
3	0	98,19 ± 0,326	1,81 ± 0,326	4,68 ± 0,031	0,60 ± 0,014
	3	98,45 ± 0,409	1,55 ± 0,409	4,68 ± 0,025	0,59 ± 0,005
	6	98,32 ± 0,245	1,68 ± 0,245	4,66 ± 0,124	0,59 ± 0,017
	9	98,33 ± 0,075	1,67 ± 0,075	4,67 ± 0,021	0,58 ± 0,007
	12	98,40 ± 0,141	1,60 ± 0,141	4,69 ± 0,042	0,58 ± 0,005
	15	98,57 ± 0,567	1,43 ± 0,567	4,68 ± 0,025	0,57 ± 0,001

**Anexo 6.** Tabla ANOVA para la humedad y SST de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	0,430618	5	0,0861236	1,77	0,1938
Intra grupos	0,584198	12	0,0486832		
Total (Corr.)	1,01482	17			

**Anexo 7.** Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0252944	5	0,00505889	1,46	0,2719
Intra grupos	0,0414667	12	0,00345556		
Total (Corr.)	0,0667611	17			

**Anexo 8.** Tabla ANOVA para la concentración de carotenoides de los 3 lotes de extracto de carotenoides a través del tiempo.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00616094	5	0,00123219	1,03	0,4432
Intra grupos	0,0143573	12	0,00119644		
Total (Corr.)	0,0205183	17			

**Anexo 9.** Tabla de los análisis fisicoquímicos de los lotes de microencapsulados del año 2023.

Lote	Tiempo (días)	Humedad (%)	pH
1	0	2,81 ± 0,012	4,18 ± 0,031
	3	2,83 ± 0,039	4,24 ± 0,006
	6	2,71 ± 0,001	4,23 ± 0,031
	9	2,76 ± 0,047	4,20 ± 0,015
	12	2,72 ± 0,033	4,20 ± 0,015
	15	2,75 ± 0,021	4,22 ± 0,066
	18	2,85 ± 0,53	4,25 ± 0,052
	21	2,86 ± 0,059	4,28 ± 0,006
	24	2,75 ± 0,042	4,21 ± 0,006
	27	2,78 ± 0,016	4,28 ± 0,006
2	30	2,72 ± 0,009	4,26 ± 0,563
	0	2,80 ± 0,020	4,24 ± 0,017
	3	2,77 ± 0,013	4,24 ± 0,021
	6	2,81 ± 0,011	4,23 ± 0,030
	9	2,91 ± 0,019	4,20 ± 0,038
	12	2,74 ± 0,042	4,19 ± 0,015
	15	2,75 ± 0,034	4,22 ± 0,047
	18	2,81 ± 0,078	4,24 ± 0,049
	21	2,77 ± 0,033	4,26 ± 0,049
	24	2,75 ± 0,032	4,24 ± 0,006
3	27	2,76 ± 0,007	4,29 ± 0,021
	30	2,74 ± 0,049	4,27 ± 0,040
	0	2,78 ± 0,096	4,25 ± 0,006
	3	2,80 ± 0,010	4,25 ± 0,015
	6	2,80 ± 0,090	4,25 ± 0,006
	9	2,74 ± 0,020	4,27 ± 0,025
	12	2,82 ± 0,009	4,29 ± 0,006
	15	2,77 ± 0,024	4,22 ± 0,118
	18	2,73 ± 0,025	4,29 ± 0,067
	21	2,74 ± 0,025	4,29 ± 0,017
24	2,90 ± 0,020	4,29 ± 0,006	
27	2,76 ± 0,008	4,25 ± 0,006	
30	2,73 ± 0,005	4,26 ± 0,096	

**Anexo 10.** Tabla de los análisis fisicoquímicos de los lotes de microencapsulados del año 2021.

Lote	Tiempo (días)	Humedad (%)	pH
1	0	6,22 ± 0,523	5,37 ± 0,0
	828	8,78 ± 0,216	3,91 ± 0,006
	832	9,10 ± 0,312	3,92 ± 0,0
	835	8,45 ± 0,151	3,92 ± 0,0
	839	8,95 ± 0,066	3,85 ± 0,010
2	0	6,62 ± 0,355	5,65 ± 0,0
	828	8,83 ± 0,046	3,91 ± 0,015
	832	9,80 ± 0,027	3,92 ± 0,580
	835	9,77 ± 0,147	3,92 ± 0,012
	839	9,58 ± 0,038	3,94 ± 0,006
3	0	5,89 ± 0,403	5,62 ± 0,017
	828	10,74 ± 0,162	3,95 ± 0,012
	832	10,43 ± 0,588	3,97 ± 0,006
	835	10,11 ± 0,358	3,94 ± 0,017
	839	10,57 ± 0,156	3,95 ± 0,0

**Anexo 11.** Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de microencapsulados año 2023.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0473515	10	0,00473515	1,89	0,1022
Intra grupos	0,0550667	22	0,00250303		
Total (Corr.)	0,102418	32			

**Anexo 12.** Tabla ANOVA para el pH de los 3 lotes de microencapsulados año 2021.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6,28056	4	1,57014	130,48	0,0000
Intra grupos	0,120333	10	0,0120333		
Total (Corr.)	6,40089	14			

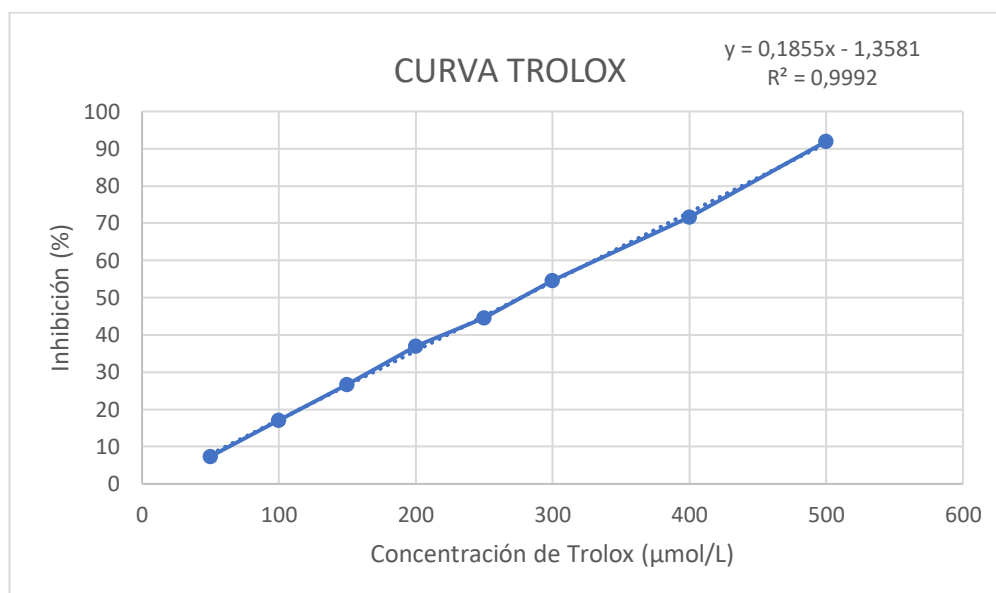
**Anexo 13.** Tabla ANOVA para la humedad de los 3 lotes de microencapsulados año 2023

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,22841	10	0,122841	1,64	0,1597
Intra grupos	1,64661	22	0,0748458		
Total (Corr.)	2,87502	32			

**Anexo 14.** Tabla ANOVA para la humedad de los 3 lotes de microencapsulados año 2021.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	28,5039	4	7,12597	14,53	0,0004
Intra grupos	4,90414	10	0,490414		
Total (Corr.)	33,408	14			

**Anexo 15.** Curva de calibración de Trolox en intervalo de 50 – 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .



**Anexo 16.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % los SST en el extracto de carotenoides.

Variable	Método normal	Método no paramétrico	Confianza lograda
Humedad (%)	(0,227; 3,554)	(0,810; 4,730)	83,0%

**Anexo 17.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH en el extracto de carotenoides.

Variable	Método normal	Método no paramétrico	Confianza lograda
pH	(4,505; 4,898)	(4,380; 4,860)	83,0%

**Anexo 18.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para la concentración de carotenoides del extracto.

<b>Variable</b>	<b>Método normal</b>	<b>Método no paramétrico</b>	<b>Confianza lograda</b>
Concentración (mg. L <sup>-1</sup> )	(0,222; 3,257)	(0,201; 2,486)	83,0%

**Anexo 19.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el porcentaje de humedad de los microencapsulados del año 2021.

<b>Variable</b>	<b>Método normal</b>	<b>Método no paramétrico</b>	<b>Confianza lograda</b>
Humedad (%)	(5,219; 12,629)	(5,600; 10,932)	83,0%

**Anexo 20.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH de los microencapsulados del año 2021.

<b>Variable</b>	<b>Método normal</b>	<b>Método no paramétrico</b>	<b>Confianza lograda</b>
pH	(2,640; 5,881)	(3,840; 5,670)	86,5%

**Anexo 21.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el porcentaje de humedad de los microencapsulados del año 2023.

<b>Variable</b>	<b>Método normal</b>	<b>Método no paramétrico</b>	<b>Confianza lograda</b>
Humedad (%)	(2,666; 6,226)	(2,397; 6,581)	96,1%

**Anexo 22.** Tabla de intervalos de confianza del 95 % para el pH de los microencapsulados del año 2021.

<b>Variable</b>	<b>Método normal</b>	<b>Método no paramétrico</b>	<b>Confianza lograda</b>
pH	(3,655; 4,574)	(3,280; 4,670)	96,1%

