

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Aplicación de la microencapsulación de antocianinas de mortiño en manteca de cacao para el desarrollo de una bebida funcional

Juan Andrés Álvarez Álvarez
Ingeniería en Alimentos

Ivanna Salomé León Terán
Ingeniería Química

**Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero en Alimentos
Ingeniera Química**

Quito, 14 de diciembre de 2022

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías - Politécnico

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Aplicación de la microencapsulación de antocianinas de mortiño en
manteca de cacao para el desarrollo de una bebida funcional**

Juan Andrés Álvarez Álvarez
Ingeniería en Alimentos

Ivanna Salomé León Terán
Ingeniería Química

**Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de**
Ingeniero en Alimentos
Ingeniera Química

Nombre del profesor, Título académico: Lucía Ramírez, Ph. D Ingeniería en Alimentos
José Álvarez, Ph. D Ingeniería Química

Quito, 14 de diciembre de 2022

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Ivanna Salomé León Terán
Juan Andrés Álvarez Álvarez

Código: 00206956
00206415

Cédula de identidad: 1722736301
1719438416

Lugar y fecha: Quito, 14 de diciembre de 2022

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Las nuevas tendencias alimenticias han impulsado el consumo de productos que aporten beneficios a la salud. El mortiño es un fruto tradicional de la zona andina conocido por su amplia gama de propiedades saludables y su contenido de antocianinas que se destacan por su capacidad antioxidante. Sin embargo, son compuestos bioactivos inestables y susceptibles a degradación durante el procesamiento de alimentos. Por lo tanto, se propone utilizar la técnica de microencapsulación con el fin de aislar las antocianinas, protegerlas de factores ambientales que puedan degradarlas e incorporarlas en una matriz alimenticia para generar una bebida funcional. Se realizó una extracción de las antocianinas de mortiño y se aplicó un diseño aleatorizado con arreglo factorial 3 (carga de extracto) x 2 (cantidad de manteca de cacao) con 3 réplicas para la formación de las micropartículas. Las muestras se liofilizaron, y tras analizar la eficiencia de encapsulación y liberación abrupta de las micropartículas se determinó el mejor tratamiento cuando la carga de extracto fue de 54, 92 mg de antocianinas de mortiño/g de manteca y la cantidad de manteca de cacao de 0,5 g. Con base en pruebas de concepto se definió una formulación con frutas tropicales para la matriz alimenticia. Esta bebida presentó baja cantidad de sodio, ausencia de grasa y valor medio de azúcar, a pesar de no tener azúcares añadidos. La cantidad de microencapsulado y el tiempo presente en la bebida no influyeron en el sabor, viscosidad, acidez, sabor o percepción global de la bebida que para los consumidores se ubicó en la parte positiva de la escala en el ancla de “me gusta moderadamente”.

Palabras clave: microencapsulación, antocianinas, eficiencia, liberación abrupta, frutas tropicales, alimentos funcionales.

ABSTRACT

New food tendencies have pushed food consumption towards products that benefit the consumer's health. The *mortiño*, also known as Andean blueberry, is a fruit native to the Andean region, known for its wide range of health benefits and properties, among which the antioxidant activity stands out due to the presence of anthocyanins. However, its bioactive compounds are unstable and susceptible to degradation during food processing. Therefore, this project focuses on using microencapsulation as a method of isolating the compound of interest, protecting it from environmental factors that affect its stability, and applying it in a tropical fruit food matrix. The *mortiño* anthocyanins were extracted and a 3 (extract concentration) x2 (cacao butter amount) factorial design with 3 repetitions was applied to form the microparticles. The samples were freeze dried, and after analyzing encapsulation efficiency and burst liberation, the best treatment was identified: 0,5g of cacao butter and 54,92 mg of anthocyanins / g of cacao butter. A food matrix was formulated as a tropical fruits blended juice. It ended with a beverage with low sodium and inexistent lipid content, and a medium content of sugar, even though the beverage does not have any added sugars. A sensory evaluation was performed, where it was demonstrated that the quantity of microencapsulation and the time present in the beverage does not influence its taste, viscosity, acidity, flavor, or overall perception.

Key words: microencapsulation, anthocyanins, efficiency, burst liberation, tropical fruits, functional foods.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	10
METODOLOGÍA.....	13
Extracción de antocianinas de mortiño	13
Cuantificación de antocianinas de mortiño	13
Curva de calibración	14
Microencapsulación de antocianinas de mortiño.....	14
Diseño Experimental	15
Eficiencia de microencapsulación	15
Liberación abrupta	15
Formulación base de la bebida	16
Concentración de antocianinas en bebida	18
Evaluación sensorial	18
Análisis estadístico	18
Análisis proximal y nutricional	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
Cuantificación de antocianinas de mortiño	20
Eficiencia de microencapsulación y liberación abrupta.....	20
Formulación base de la bebida	24
Concentración de antocianinas en bebida	26
Evaluación sensorial	27
Análisis proximal y nutricional	28
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Formulación base para la bebida	17
Tabla 2. Métodos usados para el análisis proximal y nutricional de la bebida.....	19
Tabla 3. Eficiencia de encapsulación vs. carga de extracto	21
Tabla 4. Eficiencia de encapsulación vs. cantidad de manteca.....	21
Tabla 5. Liberación abrupta vs. carga de extracto	21
Tabla 6. Liberación abrupta vs. cantidad de manteca de cacao	21
Tabla 7. Eficiencia de encapsulación y liberación abrupta de los tratamientos.....	24
Tabla 8. Nivel de agrado de sabor, viscosidad, acidez y percepción global de la bebida.....	27
Tabla 9. Nivel de agrado de color de la bebida.....	27
Tabla 10. Análisis proximal de la bebida.....	28
Tabla 11. Tratamientos para diseño experimental de microencapsulación	36
Tabla 12. Resumen diseño factorial de múltiples niveles	44
Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de la eficiencia de encapsulación de los tratamientos	45
Tabla 14. Regresión factorial general: Eficiencia de encapsulación vs. Carga de extracto y Cantidad de manteca. Resumen del modelo.....	45
Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA) de liberación abrupta de los tratamientos	47
Tabla 16. Regresión factorial general: Liberación abrupta vs. Carga de extracto y Cantidad de manteca. Resumen del modelo	47
Tabla 17. Eficiencia de encapsulación vs. Carga de extracto. Comparación en parejas de Tukey	48
Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) de eficiencia de encapsulación vs. Cantidad de manteca de los tratamientos	49
Tabla 19. Eficiencia de encapsulación vs. Cantidad de manteca. Comparaciones en pareja de Tukey.....	49
Tabla 20. ANOVA de un solo factor: Lib vs. Manteca. Análisis de varianza	50
Tabla 21. Liberación abrupta vs. Cantidad de manteca. Comparaciones en pareja de Tukey.....	50
Tabla 22. Análisis de varianza (ANOVA) de liberación abrupta vs. carga de extracto de los tratamientos	50
Tabla 23. Liberación abrupta vs. Carga de extracto. Comparaciones en pareja de Tukey	50
Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado del color de los tratamientos	54
Tabla 25. Color de los tratamientos. Comparaciones en parejas de Tukey	54
Tabla 26. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado del sabor de los tratamientos.....	55
Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado de viscosidad de los tratamientos.	55
Tabla 28. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado de la acidez de los tratamientos .	55
Tabla 29. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado global para los tratamientos	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eficiencia de la microencapsulación de antocianinas de mortiño (%). El eje y representa el porcentaje de eficiencia de microencapsulación y el eje x los mg de antocianinas de mortiño/ g de manteca según cada tratamiento. Las variables de cada tratamiento son: carga de extracto y cantidad de manteca. Columna blanca corresponde al tratamiento usando 0,5g de manteca de cacao. Columna gris corresponde a los tratamientos usando 1g de manteca de cacao.....	22
Figura 2. Liberación abrupta pasadas las 5 horas de incubación. El eje y representa el porcentaje de liberación de las micropartículas en el medio simulado pasadas 5 horas y el eje x los mg de antocianinas de mortiño/ g de manteca según cada tratamiento. Las variables de cada tratamiento son: carga de extracto y cantidad de manteca. Columna blanca corresponde al tratamiento usando 0,5g de manteca de cacao. Columna gris corresponde a los tratamientos usando 1g de manteca de cacao.....	23
Figura 3. Índice de separación de muestras de jugo de frutas en función del tiempo de licuado y la presencia de goma guar	25
Figura 4. Etiqueta nutricional de la bebida	29
Figura 5. Semáforo nutricional de la bebida	29
Figura 6. Prototipo de embalaje de bebida.....	30
Figura 7. Curva de calibración para la cuantificación de antocianinas de mortiño	36
Figura 8. Gráficas de residuos para eficiencia de encapsulación.....	46
Figura 9. Gráficas de residuos para liberación.....	48
Figura 10. ANOVA de un solo factor: Ef vs. Extracto.....	49
Figura 11. Gráficas factoriales para eficiencia de encapsulación	51
Figura 12. Gráficas factoriales para liberación abrupta	51
Figura 13. Diferencias de las medias para COLOR.....	54

INTRODUCCIÓN

El mortiño, *Vaccinium floribundum Kunth*, es un fruto nativo de zonas andinas principalmente de Ecuador y Colombia con gran importancia cultural dado que forma parte de la gastronomía tradicional de estos países [1]. En los últimos 15 años, su consumo se ha quintuplicado debido a su alto contenido de ácidos fenólicos, carotenoides, flavonoides dentro de los que se destacan las antocianinas, que inhiben la oxidación de proteínas y lípidos, e impulsan a que el mortiño sea considerado como “superalimento” [2]. Asimismo, posee propiedades antimicrobianas con mayores halos de inhibición que la ampicilina, con gran potencial para la industria alimenticia y farmacéutica [3]. Sin embargo, no ha sido aprovechado en su totalidad, ya que la domesticación de su cultivo no se ha alcanzado y su consumo es presentado más como nutracéutico, que como alimento funcional [2].

Entre los compuestos del mortiño que aportan beneficios a la salud se encuentran las antocianinas, flavonoides solubles en agua que ayudan a la prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas debido a su actividad antioxidante [4]. No obstante, su aprovechamiento en la industria alimenticia se ve limitado ya que su estabilidad es afectada por factores de procesamiento y almacenamiento como pH, solventes, temperatura, oxígeno y presencia de luz [5]. Tecnologías como la microencapsulación están surgiendo con la finalidad de reducir la degradación de estos pigmentos, aislándolos del ambiente con una pared protectora conocida como material encapsulante, que también permite una liberación controlada bajo condiciones específicas. Una de las ventajas de la técnica de microencapsulación es que además de proteger al compuesto de interés, mantiene su intensidad del color, valor nutricional y propiedades tecnológicas [6]. Adicionalmente, la microencapsulación mejora la biodisponibilidad y absorción de los compuestos dentro del tracto gastrointestinal, donde permite una liberación

controlada para una mayor eficiencia de absorción y aprovechamiento de sus actividades biológicas beneficiosas [7]. Los productos de la microencapsulación tienen morfologías y tamaños distintos entre 1 y 1000 μm . Pueden ser microcápsulas con un núcleo cubierto de una capa singular protectora, o con múltiples núcleos encapsulados y varias capas protectoras de agente encapsulante, en caso de tener morfología irregular, se las reconoce como micropartículas [8].

Se puede realizar microencapsulaciones mediante diferentes técnicas como el secado por aspersión, co-extrusión, emulsificación o gelificación iónica, entre otros métodos. Cada una de las técnicas se emplea según la necesidad del proyecto, es decir, eficiencia de encapsulación o costos de elaboración. La liofilización es una de las técnicas más aplicables para el secado de las micropartículas puesto que actúa bajo presión de vacío y a bajas temperaturas, lo que causa que se reduzcan considerablemente las reacciones de degradación de compuestos hidrosolubles y termosensibles, como las antocianinas. Por otro lado, es importante la selección del material encapsulante apropiado para la protección del compuesto de interés, y la evaluación de las interacciones entre los agentes encapsulantes y encapsulados, y el costo [8].

Dentro de los materiales encapsulantes utilizados para la formación de micropartículas está la manteca de cacao, grasa polimorfa obtenida de la semilla del cacao, compuesta principalmente de triglicéridos (98%) y con estructura ordenada que se refleja en su dureza a temperatura ambiente, pero con bajo punto de fusión, entre 27 y 33 °C [9]. Es un material apropiado para encapsulaciones, sobre todo para fines alimenticios, y forma esferas lisas, simétricas, uniformes y abundantes [10]. En Ecuador es altamente disponible al ser un país productor de cacao, y se utiliza ampliamente en la industria farmacéutica para la liberación controlada de compuestos [11].

Mediante este proyecto se busca impulsar el consumo de alimentos con propiedades beneficiosas para la salud, que provengan de agricultores locales, pues existe una demanda

creciente de alimentos percibidos como saludables, o con propiedades funcionales, y características organolépticas favorables [6]. El mercado de alimentos funcionales con ingredientes activos encapsulados está proyectado alcanzar los 45 mil millones de dólares para el 2024 [7]. De igual forma, el mortiño forma parte fundamental de la cultura ecuatoriana y se busca aprovechar sus propiedades funcionales e impulsar su consumo a través de una bebida funcional con mortiño que sea novedosa en el mercado local. La microencapsulación de sus antocianinas representa una gran oportunidad para aprovechar propiedades subutilizadas y promover un estilo de vida saludable.

El objetivo de este proyecto fue desarrollar una bebida funcional de frutas al incorporar un microencapsulado de antocianinas de mortiño con la utilización de manteca de cacao como material encapsulante. Se buscó también definir una formulación base o estándar para la bebida de frutas y en la bebida con micropartículas incorporadas evaluar las propiedades físicas y la aceptación del consumidor.

METODOLOGÍA

Extracción de antocianinas de mortiño

La extracción de antocianinas de mortiño se realizó mediante una maceración alcohólica-ácida con base en el protocolo de Bonilla [12]. Para esto, 100 g de mortiño fueron pesados y triturados en un procesador de alimentos hasta obtener una pasta homogénea. La pasta de mortiño se colocó en un erlenmeyer cubierto con papel aluminio, y se añadieron 400 mL de una solución ácida de etanol al 20% v/v, pH 1. La mezcla fue agitada por 30 segundos, macerada a 60°C por 4 horas y pasó a través de un colador de malla fina. El extracto fue concentrado en un rotavapor a 54°C por 4 horas. Debido a que parte del extracto estaba adherido a las paredes del balón, se añadieron 20 mL de agua destilada para retirar y recuperar el extracto que fue conservado en congelación en un frasco ámbar. Todo el proceso se llevó a cabo bajo protección de la luz para evitar la degradación de las antocianinas.

Cuantificación de antocianinas de mortiño

Las antocianinas fueron cuantificadas por medio del método de pH diferencial [13]. Se prepararon dos soluciones buffer de acetato de sodio (0,4 M, pH 4,5) y cloruro de potasio (0,025 M, pH 1).

Las muestras de extracto fueron diluidas en una proporción 1:20, extracto: buffer. Se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a 520 nm y 700 nm contra un blanco de agua destilada. Se calculó la cantidad de antocianinas de acuerdo con la ecuación 1:

$$\text{Antocianinas (mg / 100g de pasta)} = \frac{A \times MW \times FD \times 100}{\varepsilon \times 1} \quad (1)$$

FD corresponde al factor de dilución, el coeficiente de absorptividad molar es $\epsilon : 26900$ y $MW: 499,2$ la masa molar equivalente a citadina - 3 - glucósido [13]. A son las absorbancias previamente medidas y se obtiene a partir de la ecuación 2:

$$A = (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 1} - (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{pH\ 4,5} \quad (2)$$

Curva de calibración

Se realizó un barrido espectral en el espectrofotómetro UV-VIS HANON i5, con el fin de determinar la longitud de onda máxima del extracto de mortiño. Debido a la concentración del extracto fue necesario realizar una dilución de 1:20 con agua destilada para medir la absorbancia.

Se realizaron dos curvas de calibración, una con el medio simulado (bebida con pH 3,5) y otra con agua destilada, y se utilizaron diluciones seriadas del extracto original con concentración conocida. Luego de un barrido espectral, se determinó un pico máximo de absorbancia a 520nm, longitud de onda que se utilizó para la elaboración de la curva de calibración (Anexo 2).

Microencapsulación de antocianinas de mortiño

El proceso de microencapsulación se basó en una doble emulsión (W/O/W) [14] con manteca de cacao como material encapsulante. Se preparó una solución tween80 al 1% v/v a 80°C. La manteca de cacao previamente pesada fue fundida en baño maría a 60°C. La primera emulsión se realizó añadiendo un volumen definido de extracto en la manteca fundida (carga) y se homogeneizó por ultrasonido con una amplitud de 30 Db por 20 segundos y para la segunda emulsión se utilizó un homogeneizador de alta velocidad con estructura homogénea de tipo succión. Se colocó la solución de tween80 a 80°C y el resultado de la primera emulsión (extracto + manteca) a 1200 rpm por 1 minuto. Finalmente, se añadieron 100 mL de agua destilada a 4°C y se agitó por 30 segundos más.

Diseño Experimental

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x3, que corresponde a la combinación de cantidad de manteca de cacao (0,5 y 1 g) y la carga de extracto (2,29; 18,55 y 54,92 mg de antocianinas de mortiño/g de manteca de cacao). Se obtuvieron 6 tratamientos (Anexo 1), y 18 corridas experimentales, ya que se hicieron 3 réplicas.

Como variables de salida se evaluaron la máxima eficiencia de la microencapsulación y la mínima liberación abrupta pasadas las 5 horas.

Eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación se determinó a partir de la absorbancia de las muestras medida a 520 nm y se cuantificó la concentración con la curva de calibración. Fue necesario filtrar las muestras con un filtro de jeringa (0,4544 μm) para medir la absorbancia y se utilizó como blanco una solución acuosa de tween80 al 1% v/v.

La eficiencia se calculó mediante la ecuación 3, en donde C_0 corresponde a la concentración inicial de antocianinas (previo a la encapsulación) y C_f es la concentración de antocianinas no encapsuladas (remanentes en el sobrenadante) [15].

$$Eff (\%) = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

Liberación abrupta

La liberación abrupta es un parámetro que indica qué tan rápido se desintegra la matriz, en este caso las micropartículas, durante las primeras horas [10]. Para definir la liberación de las micropartículas, se requirió su previa liofilización. Se suspendieron las micropartículas liofilizadas en medio simulado (pH 3,5), a una concentración de 5 mg/mL. Las suspensiones se distribuyeron

en tubos cónicos cubiertos con papel aluminio, y se agitaron durante 5 horas a 40 rpm. Pasado el tiempo establecido, se filtraron las muestras (0,4544 μm) y se midió la absorbancia a 520nm, siendo el blanco el medio simulado. Para cuantificar la masa de antocianinas de las muestras se utilizó la curva de calibración.

La liberación se estableció mediante la ecuación 4, donde M_0 corresponde a la masa inicial de antocianinas encapsuladas y M_f la masa de antocianinas liberadas:

$$\text{Liberación abrupta (\%)} = \frac{M_f}{M_0} \times 100 \quad (4)$$

Formulación base de la bebida

Se elaboró una bebida como matriz alimenticia para facilitar el consumo del microencapsulado de antocianinas de mortiño. Se aplicó una prueba de concepto mediante una encuesta de 11 preguntas (Anexo 3) a 244 personas, 122 hombres y 122 mujeres entre 18 y 81 años, que estuvo activa desde el 17 al 25 de febrero del 2022, donde se buscó encontrar la bebida más atractiva para el consumidor entre avena, jugo verde y jugo de frutas ecuatorianas. Se preguntó la preferencia según qué tan refrescante, nutritiva y atractiva era la bebida para una mayor frecuencia de consumo y el jugo de frutas ecuatorianas fue el escogido.

Se elaboraron varias combinaciones de frutas ecuatorianas sin antocianinas y para la última prueba de concepto se seleccionó: piña/mango/maracuyá/hierbabuena, mango/maracuyá/hierbabuena, y taxo/mango. Participaron 245 personas, 152 mujeres y 93 hombres entre 18 y 66 años, contestaron 10 preguntas (Anexo 4) y estuvo vigente desde el 17 al 25 de marzo de 2022. La combinación de piña/mango/maracuyá/hierbabuena fue la más refrescante y atractiva, y definida como la base de la bebida.

La bebida fue elaborada con pulpa de maracuyá (*María Morena*), pulpa de mango congelada (*Supermaxi*) y piña mínimamente procesada (*Green Garden*), para estandarizar el nivel de maduración y dulzor de las frutas. Se realizaron distintas pruebas preliminares (sin aditivos) para evaluar la necesidad del uso de hidrocoloides y evitar la separación de fases en la bebida. Se comparó 4 tipos de hidrocoloides: goma guar (0,2%, 0,5% y 0,8%) p/p [16], goma xanthan (0,05%, 0,25%, 0,4%) p/p [17], goma tara (0,2%, 0,5%) p/p [18] y CMC (0,2%, 0,5%) p/p [19]. También se analizó el efecto del tiempo de licuado (30 y 180 segundos), y la necesidad de adicionar conservantes y pasteurizar la bebida para alargar su vida útil. La evaluación de los tipos, concentraciones de gomas, y tiempo de licuado se realizó con base en el índice de sedimentación (ecuación 5), donde $h(t)$ es la altura sedimentada y h_0 es la altura inicial [20].

$$IS = \frac{h(t)}{h_0} \times 100 \quad (5)$$

La formulación base de la bebida se detalla en la Tabla 1. Todos los ingredientes fueron licuados en una licuadora Osterizer classic de 3 velocidades por 30 segundos a máxima velocidad y se pasteurizó a 72 °C por 15 segundos. Posteriormente se disolvió el microencapsulado de mortiño en la bebida, agitando con una cuchara metálica hasta no evidenciar grumos.

Tabla 1. Formulación base para la bebida

Ingrediente	g/100g
Piña Green Garden	24,16
Pulpa de Mango Supermaxi	24,16
Pulpa de Maracuyá María Morena	17,57
Hierbabuena	1,1
Sorbato de potasio	0,06
Agua	32,95

Concentración de antocianinas en bebida

La cantidad de microencapsulado incorporado a la bebida se determinó según la ingesta diaria recomendada de 2,5 mg/kg*día [21], asumiendo que el peso promedio de una persona es de 60 kg. Para que la bebida sea una buena fuente de antocianinas, debe contribuir con el 10% del VDR [21], en una porción de 240mL.

Evaluación sensorial

Se aplicó una prueba de nivel de agrado con una escala hedónica de 7 puntos, siendo 1 “Me disgusta extremadamente” y 7 “Me gusta extremadamente”, para evaluar: color, sabor, acidez, viscosidad y percepción global de 3 muestras de jugo codificadas con 3 números aleatorios. La muestra 182 era un jugo control sin microencapsulado, la 524 jugo con microencapsulado incorporado inmediatamente previo a la evaluación, y la 713 jugo con microencapsulado por 24 horas. Participaron 62 jueces no entrenados [23], 29 hombres y 33 mujeres entre 17 y 43 años. El cuestionario y consentimiento informado empleados están en el Anexo 6.

La evaluación se realizó en el aula de evaluación sensorial de la Universidad San Francisco de Quito. Se utilizó un diseño en bloques completamente al azar y presentó muestras de jugo de 25 mL a 4 °C en vasos plásticos de 30 mL. Para neutralizar el paladar entre muestras se usó agua y galletas de soda (*Noel*).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron en el software Minitab mediante un análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha=0,05$) y se compararon medias con una prueba de Tukey con 95% de confianza.

Análisis proximal y nutricional

Los métodos empleados para el análisis proximal y nutricional de la formulación final de la bebida se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Métodos usados para el análisis proximal y nutricional de la bebida

Análisis	Método
Humedad	Diferencia de peso tras secado [24]
Cenizas	Mufla [25]
Proteínas	Kjeldahl [26]
Grasa	Método de Gerber [27]
Carbohidratos	Por Diferencia
Azúcares	Refractómetro/Brix [28]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de antocianinas de mortiño

La concentración de antocianinas mediante el método de pH diferencial fue de 18,799 mg de antocianinas / 100 g de mortiño, ubicado dentro del rango reportado en la literatura entre 0,42 y 271,9 mg/100 g de mortiño [29]. Esta concentración depende del estado de madurez de la fruta y de la exposición del extracto a los diferentes factores que degradan las antocianinas como el contacto directo con la luz, aumento de temperatura y pH superior a 4,5 durante el proceso de extracción [5].

A partir de la concentración de antocianinas obtenida en el extracto, se elaboró la curva de calibración y se cuantificó las antocianinas presentes en las muestras.

Eficiencia de microencapsulación y liberación abrupta

Tanto para la eficiencia de microencapsulación como para la liberación abrupta, la carga de extracto y la cantidad de manteca influyeron significativamente ($p < 0,05$), y en el caso de la liberación abrupta, la interacción de ambos factores también tuvo efecto significativo. Los valores de R^2 son elevados, siendo 97,24% para la eficiencia de encapsulación y 99,08% para la liberación abrupta, por lo que la validez estadística del modelo es aceptable.

En la Tabla 3, se evidencia que la carga de extracto en el nivel mayor y menor (54,92 mg/g y 2,29 mg/g) fueron estadísticamente iguales entre sí y estadísticamente diferentes del segundo nivel de este factor (18,55 mg/g). Mientras que, para la cantidad de manteca, los niveles fueron estadísticamente diferentes, donde la menor cantidad de manteca (0,5 g) tuvo mayor eficiencia de encapsulación ($35,22 \pm 10,20\%$) (Tabla 4).

Tabla 3. Eficiencia de encapsulación vs. carga de extracto

Carga de Extracto (mg antoc./g manteca)	N	Media ± DS
54,92	6	38,02 ± 6,17 ^A
2,29	6	31,02 ± 8,09 ^A
18,55	6	14,71 ± 8,51 ^B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Tabla 4. Eficiencia de encapsulación vs. cantidad de manteca

Cantidad de Manteca (g)	N	Media ± DS
0,5	9	35,22 ± 10,20 ^A
1,0	9	21,95 ± 11,52 ^B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

La carga de extracto en su nivel más bajo (2,29 mg/g de manteca) mostró tener mayor liberación abrupta, y fue estadísticamente diferente a los otros niveles del factor como se muestra en la Tabla 5. La cantidad de manteca de cacao no tuvo efecto significativo en la cantidad de antocianinas liberadas (Tabla 6).

Tabla 5. Liberación abrupta vs. carga de extracto

Carga de Extracto (mg antoc./g manteca)	N	Media ± DS
2,29	6	61,45 ± 22,64 ^A
18,55	6	8,88 ± 1,08 ^B
54,92	6	2,66 ± 0,62 ^B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Tabla 6. Liberación abrupta vs. cantidad de manteca de cacao

Cantidad de Manteca (g)	N	Media ± DS
1,0	9	31,50 ± 37,83 ^A
0,5	9	17,14 ± 18,39 ^A

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

El tratamiento con mayor eficiencia correspondió a una carga de extracto de 54,92 mg/g con 0,5 g de manteca de cacao, obteniendo $43,61 \pm 0,64\%$ como se indica en la Figura 1. La eficiencia obtenida es menor al reportado por otros métodos de encapsulación, debido a que la técnica con doble emulsión y bases lipídicas no se considera estable, por lo tanto, no es sencillo conservar la composición de las micropartículas en el tiempo [8]. La utilización de matrices lipídicas y la técnica de doble emulsión genera una eficiencia de encapsulación máxima del 60%, con una frecuencia de uso de técnica de apenas el 14,58% [30]. Sin embargo, el presente estudio buscaba aprovechar la manteca de cacao al ser un material disponible dentro de un país cacaotero [31], que además ha demostrado tener mayor biodisponibilidad y resistencia fisiológica que otros materiales encapsulantes como carbohidratos y gomas [11]. Debido a los bajos niveles de eficiencia del proceso, se ha propuesto la adición de biopolímeros como la goma guar entre el 0,75 y 1,75 % en la primera emulsión con el fin de aumentar la eficiencia de la microencapsulación hasta el 90,6% como ha sido reportado [32].

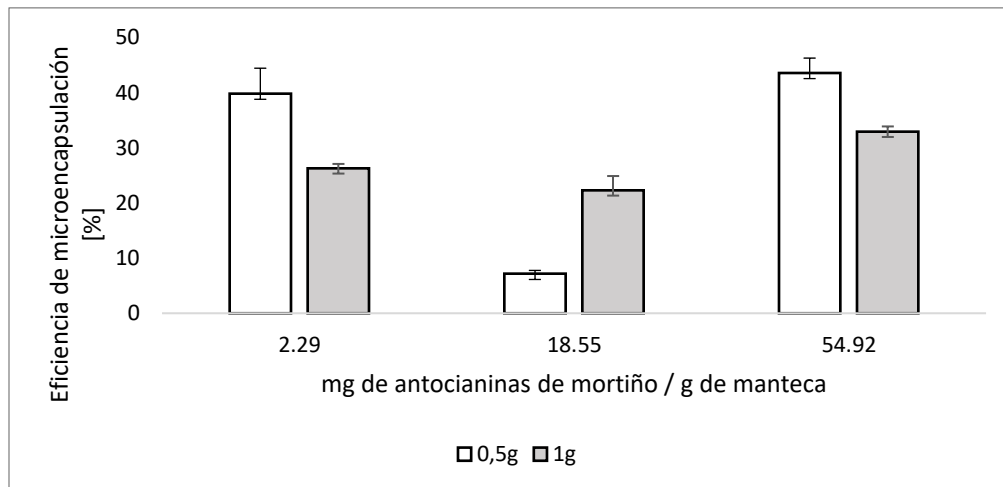


Figura 1. Eficiencia de la microencapsulación de antocianinas de mortiño (%). El eje y representa el porcentaje de eficiencia de microencapsulación y el eje x los mg de antocianinas de mortiño/ g de manteca según cada tratamiento. Las variables de cada tratamiento son: carga de extracto y cantidad de manteca. Columna blanca corresponde al tratamiento usando 0,5g de manteca de cacao. Columna gris corresponde a los tratamientos usando 1g de manteca de cacao.

Todos los tratamientos del diseño experimental se realizaron mediante una doble emulsión de agua en aceite en agua (W/O/W). Este tipo de método de microencapsulación es útil para controlar la liberación de las sustancias bioactivas por lo que presentan un bajo porcentaje de liberación. En este caso se buscó el tratamiento con menor liberación pasadas 5 horas de agitación, que coincide con la mayor carga de extracto (54,92mg/g) y la menor cantidad de manteca (0,5 g). El porcentaje de liberación con este tratamiento corresponde al $2,10 \pm 0,20\%$, presentado en la Figura 2. Otras investigaciones han indicado que pasadas 2 horas de incubación el porcentaje de liberación fue de $3,66 \pm 2,32\%$ [31].

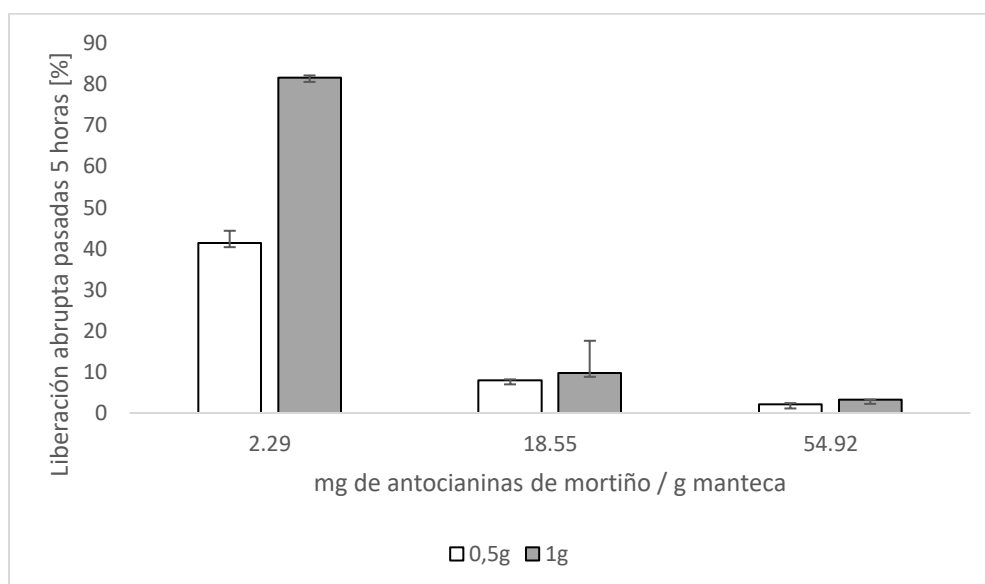


Figura 2. Liberación abrupta pasadas las 5 horas de incubación. El eje y representa el porcentaje de liberación de las micropartículas en el medio simulado pasadas 5 horas y el eje x los mg de antocianinas de mortiño/ g de manteca según cada tratamiento. Las variables de cada tratamiento son: carga de extracto y cantidad de manteca. Columna blanca corresponde al tratamiento usando 0,5g de manteca de cacao. Columna gris corresponde a los tratamientos usando 1g de manteca de cacao.

El tratamiento óptimo para el proceso de microencapsulación de antocianinas de mortiño fue el número 5 con una carga de 54,92 mg de antocianinas / g de manteca y 0,5 g de manteca de

cacao, por su mayor eficiencia de encapsulación y menor porcentaje de liberación en el tiempo (Tabla 7).

Tabla 7. Eficiencia de encapsulación y liberación abrupta de los tratamientos

Eficiencia de Encapsulación			Liberación abrupta		
T	Media \pm DS		T	Media \pm DS	
5	43,61 \pm 0,64	A	2	81,54 \pm 7,77	A
1	39,75 \pm 4,63	A	1	41,35 \pm 2,98	B
6	32,42 \pm 0,90	B	4	9,80 \pm 0,57	C
2	26,30 \pm 2,55	B C	3	7,97 \pm 0,30	C
3	22,30 \pm 2,72	C	6	3,22 \pm 0,03	C
4	7,12 \pm 0,75	D	5	2,10 \pm 0,20	C

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey

Formulación base de la bebida

Se realizó una prueba previa para comparar muestras de jugo con y sin pasteurización, y se evidenció que las muestras sin pasteurizar se fermentaron en 2 días. Para determinar la necesidad de una combinación de conservantes y pasteurización para alargar la vida útil de la bebida, se compararon 3 tratamientos: con sorbato de potasio al 0,06% p/p, pasteurizado, y con la combinación de los dos (sorbato + pasteurización). Organolépticamente se detectó que la muestra sin pasteurizar se fermentó en 3 días, mientras que la muestra sin sorbato de potasio en 5 días, y la muestra con ambos tratamientos tuvo el mayor tiempo de vida útil. El jugo de fruta elaborado es altamente susceptible al crecimiento bacteriano, de hongos y levaduras debido a su bajo pH y alto contenido de azúcares, además de ser fuente de nitrógeno, que actúa como sustrato para numerosas levaduras [34]. El sorbato de potasio tiene gran utilidad en la bebida puesto que limita el crecimiento de mohos, levaduras y varias bacterias, y su efectividad aumenta con el descenso del pH en valores menores a 6,5 [35]. La pasteurización reduce la carga microbiana y asegura la eliminación de patógenos en la bebida, alargando su vida útil [36]. Por lo tanto, se estableció que

la bebida debía contener sorbato de potasio al 0,06% y ser pasteurizada, para asegurar mayor inocuidad.

La prueba de comparación de distintos hidrocoloides (goma guar, goma tara, CMC y goma xantana) generó bebidas de alta viscosidad en los niveles más altos de concentración de todas las gomas, que eran poco agradables al paladar como consecuencia de la alta capacidad de retención de agua de los hidrocoloides, su capacidad de formar geles y estabilidad a valores de pH bajos [19]. La eficacia de la goma tara depende de las condiciones de uso, puesto que también tiene propiedades clarificantes, por lo que no fue apta para evitar la separación de fases en la bebida [37]. Por otro lado, la goma xanthan y CMC tuvieron mayor dificultad de disolución que la goma guar, y se optó por analizar en mayor profundidad el uso de esta última goma como alternativa de hidrocoloide para la bebida.

Para establecer el tiempo de licuado, se comparó muestras con goma guar al 0,25% frente a muestras sin gomas adicionadas. Cada tratamiento se licuó por 30 y 180 segundos y se analizó el índice de separación por 7 días (Figura 3).

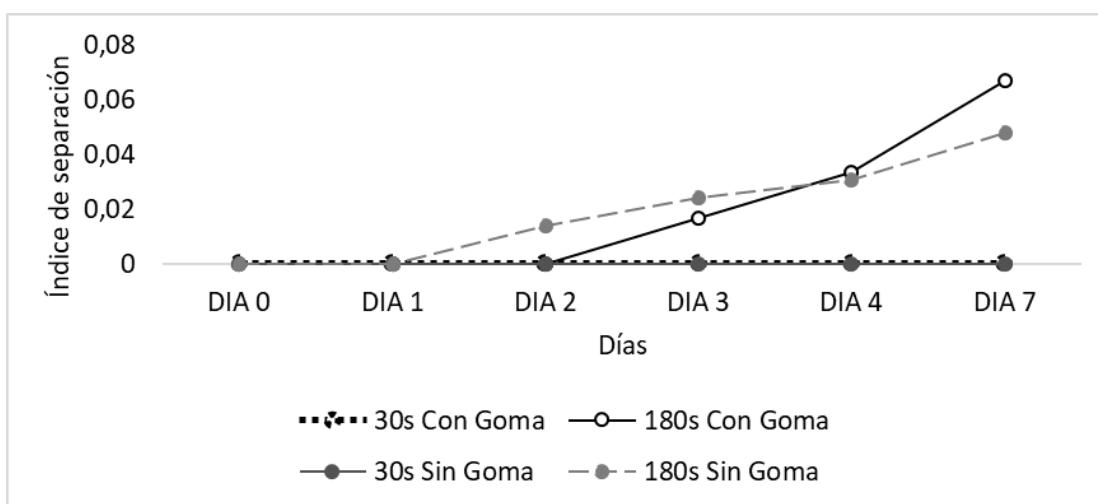


Figura 3. Índice de separación de muestras de jugo de frutas en función del tiempo de licuado y la presencia de goma guar

El tiempo de licuado influyó más en la separación de fases de la bebida que la presencia del hidrocoloide. Independientemente de la presencia de goma guar, mientras mayor fue el tiempo de licuado, el jugo mostró separación en menor tiempo. Esto se puede deber a la presencia de pulpa de piña en la bebida, donde la estabilidad y sedimentación se ve influenciada por la presión de homogenización. La homogenización a más de 400 bares provoca sedimentación de pulpas, puesto que las partículas con menor tamaño se ven mayormente afectadas por fuerzas de atracción de Van Der Waals, forman agrupaciones de partículas y se sedimentan con mayor rapidez [38]. Por lo tanto, se asume que el tiempo prolongado de licuado aporta un efecto similar al jugo al de una homogenización con presiones elevadas.

El uso de goma guar fue innecesario en la bebida, ya que no influyó en la separación de fases. La bebida no necesitó de hidrocoloides por la contribución de pectina (fibra soluble) de las frutas de su formulación. La pectina actúa como estabilizante, gelificante y espesante en jugos, y crea un efecto similar a lo que haría un hidrocoloide añadido [39]. De igual forma, la hierbabuena es una buena fuente de fibra soluble, que tiene comportamiento similar [40]. Por ende, se optó por no usar goma guar en la bebida. Incluso, el tratamiento térmico de la pasteurización ayudó a la estabilidad de la bebida y evitó la separación de fases, por inactivación de la *pectinmetilesterasa*, enzima responsable de romper los enlaces éster de las pectinas, que normalmente resulta en pérdida de turbidez y precipitación de partículas [41].

Concentración de antocianinas en bebida

La cantidad de microencapsulado para 240 mL (tamaño de porción) fue de 0,2 g. Con esta concentración de antocianinas la bebida fue analizada sensorialmente y se determinó su análisis proximal.

Evaluación sensorial

No existió diferencia significativa entre los tratamientos en 4 de los atributos analizados en la evaluación sensorial, lo que indica que la cantidad de microencapsulado y el tiempo presente en la bebida no influyeron en el sabor, viscosidad, acidez, o percepción global de la bebida. Las calificaciones estuvieron en el ancla “Me gusta moderadamente” (Tabla 8).

Tabla 8. Nivel de agrado de sabor, viscosidad, acidez y percepción global de la bebida

Atributo	Aceptabilidad		
	Muestra 524	Muestra 713	Muestra 182
Sabor	5,13 ± 1,21	4,84 ± 1,44	4,98 ± 1,22
Viscosidad	5,26 ± 1,40	5,53 ± 1,20	5,45 ± 1,29
Acidez	5,11 ± 1,52	4,68 ± 1,53	4,64 ± 1,49
Global	5,24 ± 1,04	5,02 ± 1,23	5,13 ± 1,09

*Valores medios ± desviación estándar (n=62). Muestra 524 = Formulación agregado el microencapsulado inmediatamente previo a la evaluación. Muestra 713 = Formulación con microencapsulado por 24h. Muestra 182 = Muestra control sin encapsulado.

Existió diferencia significativa entre los tratamientos para el color, explicando que la adición del encapsulado mejoró la percepción de tonalidad de la bebida (Tabla 9).

Tabla 9. Nivel de agrado de color de la bebida

Atributo	Aceptabilidad		
	Muestra 524	Muestra 713	Muestra 182
Color	5,58 ± 1,02 ^A	5,34 ± 1,05 ^{A B}	5,11 ± 1,13 ^B

*Valores medios ± desviación estándar (n=62). Muestra 524 = Formulación agregado el microencapsulado inmediatamente previo a la evaluación. Muestra 713 = Formulación con microencapsulado por 24h. Muestra 182 = Muestra control sin encapsulado. Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey

Análisis proximal y nutricional

En la Tabla 10 se muestra el análisis proximal de la bebida con microencapsulado. El alto contenido de humedad y azúcares, acompañado del bajo contenido de grasa y proteína se debe a las frutas utilizadas en la bebida. A pesar de no contener azúcares añadidos, el contenido es elevado debido a la piña y al mango son de las frutas con mayor contenido de azúcares naturales, siendo estos, en promedio, 10% y 14% respectivamente [42].

Tabla 10. Análisis proximal de la bebida

Determinación	g/100g
Humedad	92,57
Cenizas	0,24
Proteínas	0,18
Grasa	0,2
Carbohidratos totales	6,79
Azúcares	6
Sodio	0,02

Se presenta la etiqueta nutricional de la bebida en la Figura 4. La bebida tiene un nivel calórico similar o inferior frente a otras bebidas encontradas en el mercado [43] [44], que también se debe a la escasez de proteínas y grasa en las frutas usadas.

Información nutricional	
Tamaño por porción	1 vaso 240 mL
Porciones por envase	1
Cantidad por porción	
Energía (calorías)	268 kJ (64 Kcal)
Energía (calorías de la grasa)	0 kJ (0 Kcal)
	% VDR*
Grasa total 0g	0%
Sodio 50mg	2%
Carbohidratos totales 16g	5%
Azúcares 14g	
Proteínas 0g	0%
*Porcentaje de valores diarios basados en una dieta de 2000kcal (8380 kJ).	

Figura 4. Etiqueta nutricional de la bebida

El contenido de azúcares naturales de la fruta generó en el semáforo nutricional un nivel medio de azúcar, además la bebida es baja en sodio y no contiene grasa (Figura 5). El nivel medio de azúcar puede ser interpretado por el consumidor como una bebida poco saludable, pero no contiene azúcares añadidos. Incluso, al ser un producto donde el procesamiento no altera la cantidad de grasa, azúcar y sodio propio de su materia prima natural, legalmente no es obligatorio incluir este semáforo [45].



Figura 5. Semáforo nutricional de la bebida

Embalaje y Etiqueta

El embalaje propuesto para la bebida es una botella de vidrio en presentación de 240 mL. El vidrio es una barrera contra el oxígeno, no permite migración con el ambiente, no interactúa con el contenido y no altera el color o sabor de la bebida [46]. Además, es un material resistente que permite visibilidad completa del contenido y da una percepción de elegancia y mejor calidad.

Se creó la marca “YANAPAQI” para la bebida. Esta palabra en quechua significa “protector” o “el que ayuda” [47]. El uso de la palabra recae en un doble sentido: la microencapsulación como protección de las antocianinas, que es el diferenciador de esta bebida contra la competencia, y la protección de salud al consumidor.

Los colores de la marca están pensados para recordar el morado del mortiño y las antocianinas, además de brindar un contraste atractivo al color de la bebida (Figura 6).

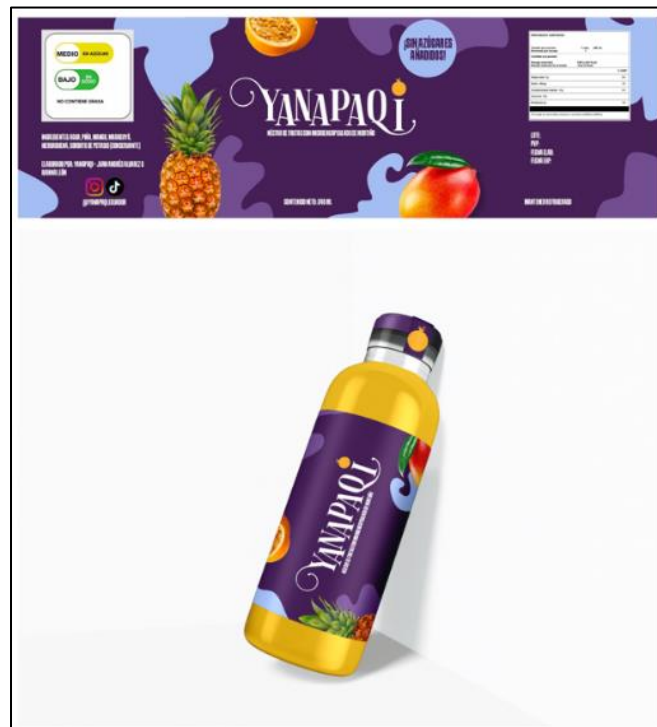


Figura 6. Prototipo de embalaje de bebida

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En cuanto al proceso de microencapsulación, la carga de extracto y cantidad de manteca de cacao influyeron significativamente en la eficiencia de encapsulación y liberación abrupta de microencapsulaciones de antocianinas de mortiño. La mayor eficiencia de encapsulación ($43,50 \pm 0,64\%$) y menor liberación abrupta de este proceso ($2,10 \pm 0,20\%$) se obtuvo con 54,92 mg de antocianinas de mortiño /g de manteca para la carga de extracto y 0,5 g de manteca de cacao. La cantidad y tiempo de la adición de microencapsulado de mortiño no alteró las propiedades organolépticas de la bebida que tuvo un nivel de aceptación promedio de 5,13 en la escala hedónica, correspondiente a “Me gusta moderadamente”. Por otro lado, la bebida presentó un bajo nivel de sodio, ausencia de grasa y nivel medio de azúcar, que se debe al elevado contenido de azúcares naturales en las frutas utilizadas. Además, un mayor tiempo de licuado en la bebida provocó una separación de fases en menor tiempo, mientras que las pectinas y otras fibras solubles de las frutas usadas en la bebida actuaron como hidrocoloides naturales, y evitaron la separación de fases.

Se recomienda evaluar el efecto biológico/antioxidante de las antocianinas de la bebida, Aplicar el microencapsulado en otra matriz alimenticia para determinar cuál es un mejor vehículo para el consumo y estabilidad de antocianinas. Sería interesante también comparar este método de microencapsulación de antocianinas con uno distinto, como spray dryer.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] P. Vega-Polo, M. M. Cobo, A. Argudo, B. Gutierrez, J. Rowntree, y M. de L. Torres, “Characterizing the genetic diversity of the Andean blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth.) across the Ecuadorian Highlands”, *PLOS ONE*, vol. 15, núm. 12, p. e0243420, dic 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0243420.
- [2] S. A. Llivisaca-Contreras *et al.*, “Mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth): An Underutilized Superplant from the Andes”, *Horticulturae*, vol. 8, núm. 5, Art. núm. 5, may 2022, doi: 10.3390/horticulturae8050358.
- [3] S. Llivisaca *et al.*, “Chemical, antimicrobial, and molecular characterization of mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth) fruits and leaves”, *Food Sci. Nutr.*, vol. 6, núm. 4, pp. 934–942, mar. 2018, doi: 10.1002/fsn3.638.
- [4] R. Mattioli, A. Francioso, L. Mosca, y P. Silva, “Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases”, *Mol. Basel Switz.*, vol. 25, núm. 17, p. E3809, ago. 2020, doi: 10.3390/molecules25173809.
- [5] D. Teneva, D. Pencheva, A. Petrova, M. Ognyanov, Y. Georgiev, y P. Denev, “Addition of Medicinal Plants Increases Antioxidant Activity, Color, and Anthocyanin Stability of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Functional Beverages”, *Plants*, vol. 11, núm. 3, Art. núm. 3, ene. 2022, doi: 10.3390/plants11030243.
- [6] A. G. Tarone, C. B. B. Cazarin, y M. R. Marostica Junior, “Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation”, *Food Res. Int. Ott. Ont*, vol. 133, p. 109092, jul. 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109092.
- [7] N. Mehta *et al.*, “Microencapsulation as a Noble Technique for the Application of Bioactive Compounds in the Food Industry: A Comprehensive Review”, *Appl. Sci.*, vol. 12, núm. 3, Art. núm. 3, ene. 2022, doi: 10.3390/app12031424.
- [8] S. Mohammadalinejad y M. A. Kurek, “Microencapsulation of anthocyanins-critical review of techniques and wall materials”, *Appl. Sci. Switz.*, vol. 11, núm. 9, 2021, doi: 10.3390/app11093936.
- [9] M. Codini, F. D. Vélez, M. Ghirardi, y I. Villavicencio, “OBTENCIÓN Y UTILIZACIÓN DE LA MANTECA DE CACAO”, p. 13, 2004.
- [10] S. A. Betancourt Rodríguez, “Evaluación de la microencapsulación de oleoresina de cúrcuma (*Curcuma longa*) utilizando distintos agentes encapsulantes grasos”, masterThesis, Quito, 2021. Consultado: el 3 de noviembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/11019>
- [11] E. A. Salcedo García, “Evaluación de la microencapsulación de curcumina empleando cera de abeja y manteca de cacao como materiales encapsulantes”, bachelorThesis, Quito, 2021. Consultado: el 3 de noviembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/11333>
- [12] M. C. Bonilla, “Extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes obtenidos a partir de zarzamora”, el 15 de mayo de 2008. http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/ceron_b_m/ (consultado el 26 de septiembre de 2022).
- [13] Y. Maltabar, “Extracción y cuantificación de antocianinas por método de pH diferencial”, bachelorThesis, Quito, 2020. Consultado: el 3 de noviembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/9223>

- [14] “Microencapsulation of insulin and its release using w/o/w double emulsion method - ScienceDirect”. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775716309001> (consultado el 11 de diciembre de 2022).
- [15] S. H. Martha y B. D. Carlos, “EFICIENCIA DE ENCAPSULACION Y CAPACIDAD DE CARGA DE ANTOCIANINAS DE *Vaccinium floribundum* Kunt EN NANOPARTICULAS DE ZEINA”, *infoANALÍTICA*, vol. 8, núm. 1, pp. 83–97.
- [16] “Usos y aplicaciones de la Goma Guar | QuimiNet”. <https://www.quiminet.com/articulos/usos-y-aplicaciones-de-la-goma-guar-45016.htm> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [17] C. V. L. Mora y C. D. Z. Zambrano, “EFECTO DE LOS PORCENTAJES DE MUCÍLAGOS DE DOS VARIEDADES DE CACAO Y GOMA XANTHAN EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE UN NÉCTAR”, p. 93.
- [18] “La goma de tara: Alternativa sana y natural frente a la goma guar”, *Silvateam*, el 15 de mayo de 2015. <https://www.silvateam.com/es/productos-y-servicios/aditivos-alimentarios/goma-de-tara/la-goma-de-tara-alternativa-sana-y-natural-frente-la-goma-guar.html> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [19] J. C. Valencia Estacio y J. S. Bravo Bravo, “Influencia de las gomas xanthan, cmc y guar, y sus porcentajes en la estabilidad de un néctar de carambola con naranja”, bachelorThesis, Calceta: ESPAM MFL, 2022. Consultado: el 7 de diciembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1755>
- [20] Universidade Federal de Lavras, K. P. Contreras-Lozano, H. J. Ciro-Velásquez, Universidad Nacional de Colombia, J. C. Arango-Tobón, y Universidad Nacional de Colombia, “Hidrocoloides como estabilizantes en bebidas de maíz dulce (*Zea mays* var. *saccharata*) y gel de aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller)”, *Rev. UDCA Actual. Divulg. Científica*, vol. 22, núm. 2, dic. 2019, doi: 10.31910/rudca.v22.n2.2019.1090.
- [21] M. Y. H. Sotero y E. S. Hernández, “POLIFENOLES, ANTOCIANINAS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN JUGOS COMERCIALES Y JUGO DE ZARZAMORA TRATADO CON MICROONDAS”, p. 12.
- [22] “Ley de Alimentos: Manual de Etiquetado Nutricional”, *Ministerio de Salud – Gobierno de Chile*. <https://www.minsal.cl/ley-de-alimentos-manual-etiquetado-nutricional/> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [23] “[PDF] Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos | Semantic Scholar”. <https://www.semanticscholar.org/paper/Gu%C3%ADa-para-la-Evaluaci%C3%B3n-Sensorial-de-Alimentos-Reyna-Dom%C3%ADnguez/faec49e086428333bcee23b7900eeca4b16b9a> (consultado el 13 de diciembre de 2022).
- [24] I. A. PÉREZ*info:eu-repo/dai/mx/cvu/*658107, “Implementación de análisis Bromatológicos (Grasas totales, Cenizas, Humedad y Fibra cruda) en la empresa Alimentos Tenerife”, abr. 2017, Consultado: el 7 de diciembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <http://reini.utcv.edu.mx:80/handle/123456789/343>
- [25] *DETERMINACIÓN DE CENIZAS*, (el 11 de mayo de 2020). Consultado: el 5 de diciembre de 2022. [En línea Video]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=pZ1-DSY164g>
- [26] G. Martínez y F. Segovia, “ETSIAMN. Universitat Politècnica de València”, p. 6.
- [27] “Determinación del contenido en grasa de la leche por el método Gerber”. <https://riunet.upv.es/handle/10251/30627> (consultado el 7 de diciembre de 2022).

- [28] *Determinación de azúcares (sólidos solubles totales) en frutas y zumos*, (el 26 de marzo de 2015). Consultado: el 5 de diciembre de 2022. [En línea Video]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=xmKWosCAaTM>
- [29] C. Montoya, J. Hernández, M. Arias, C. Cano, y B. Rojano, “Cambios en la Actividad Antioxidante en Frutos de Mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante su Desarrollo y Maduración”, *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín*, vol. 65, pp. 87–6495, jun. 2012.
- [30] N. Sharif, S. Khoshnoudi-Nia, y S. M. Jafari, “Nano/microencapsulation of anthocyanins; a systematic review and meta-analysis”, *Food Res. Int.*, vol. 132, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109077.
- [31] M. G. Lucero Álvarez, “Caracterización de la manteca de cacao de tres variedades trinitario (CCN-51), nacional (EET-103) y forastero (IMC-67), Quevedo – Ecuador”, bachelorThesis, Quevedo: UTEQ, 2015. Consultado: el 11 de diciembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/78>
- [32] D. de Almeida Paula *et al.*, “Increased thermal stability of anthocyanins at pH 4.0 by guar gum in aqueous dispersions and in double emulsions W/O/W”, *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 117, pp. 665–672, oct. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.219.
- [33] Y. Huang y W. Zhou, “Microencapsulation of anthocyanins through two-step emulsification and release characteristics during in vitro digestion”, *Food Chem.*, vol. 278, pp. 357–363, abr. 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.073.
- [34] K. R. Aneja, R. Dhiman, N. K. Aggarwal, y A. Aneja, “Emerging Preservation Techniques for Controlling Spoilage and Pathogenic Microorganisms in Fruit Juices”, *Int. J. Microbiol.*, vol. 2014, pp. 1–14, 2014, doi: 10.1155/2014/758942.
- [35] “Repositorio Digital Universidad Técnica de Cotopaxi: Estadísticas”. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/1637/statistics> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [36] libbys, “¿Qué es la pasteurización y para qué sirve?”, *LIBBYS*, el 19 de junio de 2014. <https://libbys.es/blog/habitos-saludables/pasteurizacion-de-los-zumos/4381> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [37] “Efecto del ph y Concentración de Goma de Tara (*Caesalpinia spinosa*) sobre la Clarificación del Jugo de Caña (*Saccharum officinarum*)”. <https://1library.co/document/yew9xp7y-efecto-del-ph-y-concentracion-de-goma-de-tara-caesalpinia-spinosa-sobre-la-clarificacion-del-jugo-de-cana-saccharum-officinarum.html> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [38] V. M. Silva, A. C. K. Sato, G. Barbosa, G. Dacanal, H. J. Ciro-Velásquez, y R. L. Cunha, “The effect of homogenisation on the stability of pineapple pulp: Homogenisation of pineapple pulp”, *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 45, núm. 10, pp. 2127–2133, sep. 2010, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02386.x.
- [39] J. C. M. Bohórquez, “IMPACTO DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y ESTRUCTURALES EN LA IMPRESIÓN 3D DE HIDROCOLOIDES DE ALMIDÓN-MANGO Y ALMIDÓN-ARABINOXILANOS”, p. 43.
- [40] “FoodData Central”. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173475/nutrients> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [41] Y. A. Pinchao, O. Osorio, y D. Mejía, “Inactivación Térmica de Pectinmetilesterasa en Jugo de Uchuva (*Physalis peruviana* L.)”, *Inf. Tecnológica*, vol. 25, núm. 5, pp. 55–64, 2014, doi: 10.4067/S0718-07642014000500009.

- [42] radio onda cero, “Estas son las frutas que más azúcar tienen y las que menos | Onda Cero Radio”, el 13 de octubre de 2022. https://www.ondacero.es/noticias/sociedad/estas-son-frutas-que-mas-azucar-tienen-que-menos_202210136347c2137cf26200016bc6dc6.html (consultado el 6 de diciembre de 2022).
- [43] “Jugo Durazno - Pulp - Calorías e Información Nutricional”. <https://fitia.app/calorias-informacion-nutricional/jugo-durazno-2000460/> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [44] “Fitia - Pierde o Gana Peso con Un Plan Inteligente”. <https://fitia.app/ar/calorias-informacion-nutricional/Bebidas/Del%20Valle/> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [45] “Reglamentación INEN: RTE INEN 022 (2R) ‘Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empaquetados’”. <http://inenreglamentacion.blogspot.com/2017/11/rte-inen-022-2r-rotulado-de-productos.html> (consultado el 7 de diciembre de 2022).
- [46] R. T. F. TECH, “Ventajas del envase de vidrio”, *The Food Tech*, el 24 de mayo de 2022. <https://thefoodtech.com/historico/ventajas-del-envase-de-vidrio/> (consultado el 6 de diciembre de 2022).
- [47] www.significadode.org, “YANAPAQI - Diccionario Abierto de Quechua”, www.significadode.org. <https://www.significadode.org/quechua/yanapaqi.htm> (consultado el 6 de diciembre de 2022).

ANEXOS

ANEXO 1. Tratamientos para diseño experimental de microencapsulación de antocianinas de mortiño.

Tabla 11. Tratamientos para diseño experimental de microencapsulación

Tratamiento	Carga de extracto en volumen [mg antocianinas/g manteca]	Cantidad de manteca [g]
1	2,29	0,5
2	18,55	1
3	54,92	0,5
4	2,29	1
5	18,55	0,5
6	54,92	1

ANEXO 2. Curva de calibración para la cuantificación de antocianinas de mortiño.

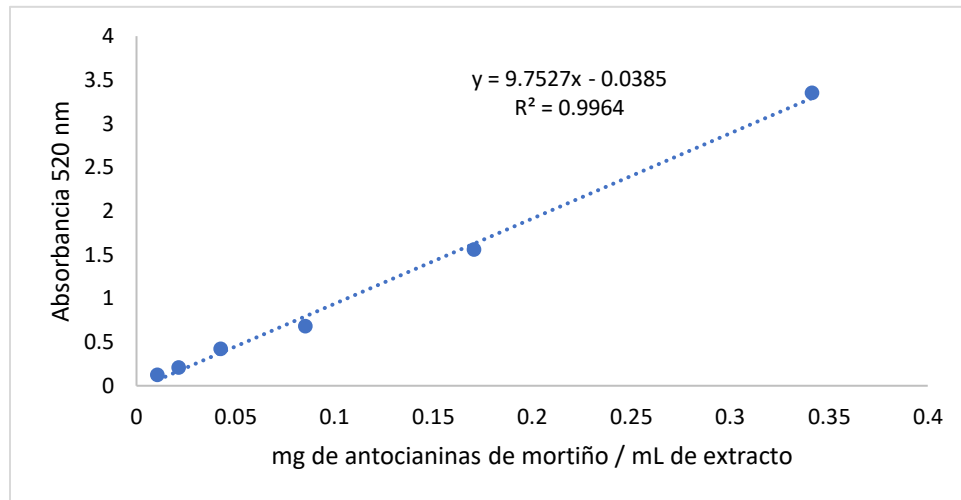
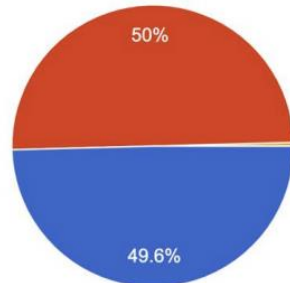


Figura 7. Curva de calibración para la cuantificación de antocianinas de mortiño

ANEXO 3. Prueba de concepto 1

¿Cuál es su sexo?

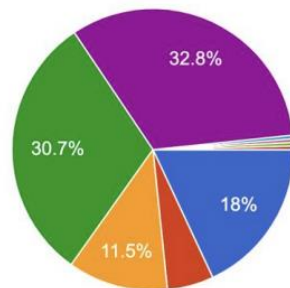
244 responses



- Masculino
- Femenino
- Prefiero no decirlo

¿Cuál es su edad?

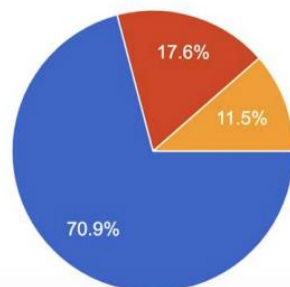
244 responses



- 16-25
- 26-30
- 31-40
- 41-55
- 55 en adelante
- 60
- 224
- 66
- 81

¿Qué bebida considera más nutritiva?

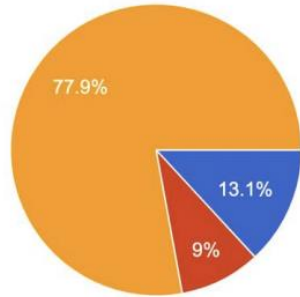
244 responses



- Jugo verde (combinación de piña, apio, manzana verde, pepino, espinaca, etc.)
- Avena con frutas (estilo Quaker)
- Jugo de frutas ecuatorianas (combinación de taxo, tomate de árbol, naranjilla, etc.)

¿Qué bebida considera más refrescante?

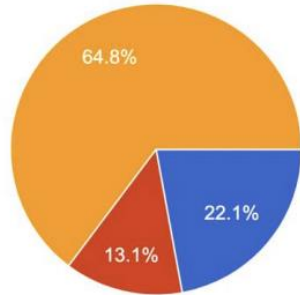
244 responses



- Jugo verde (combinación de piña, apio, manzana verde, pepino, espinaca, etc.)
- Avena con frutas (estilo Quaker)
- Jugo de frutas ecuatorianas (combinación de taxo, tomate de árbol, naranjilla, etc.)

¿Qué bebida considera más atractiva?

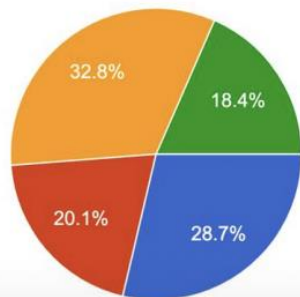
244 responses



- Jugo verde (combinación de piña, apio, manzana verde, pepino, espinaca, etc.)
- Avena con frutas (estilo Quaker)
- Jugo de frutas ecuatorianas (combinación de taxo, tomate de árbol, naranjilla, etc.)

¿Qué tan regular sería su consumo de jugo verde?

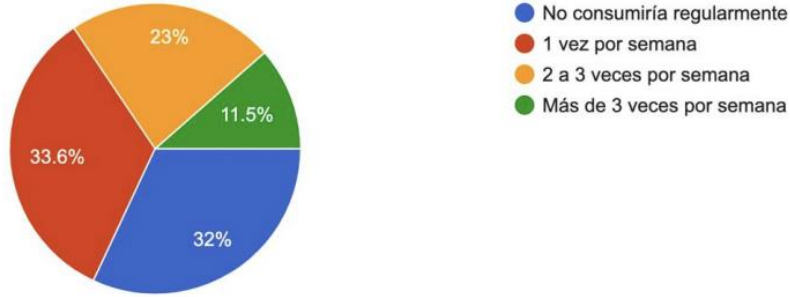
244 responses



- No consumiría regularmente
- 1 vez por semana
- 2 a 3 veces por semana
- Más de 3 veces por semana

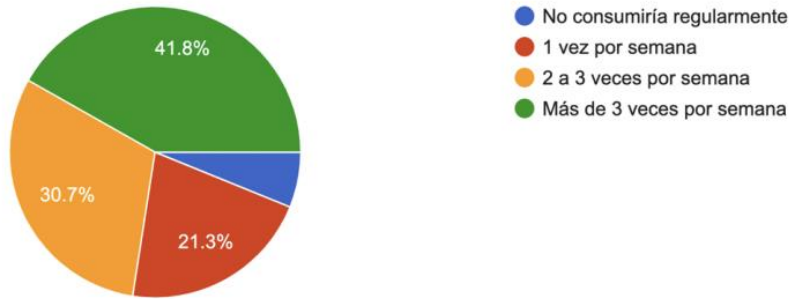
¿Qué tan regular sería su consumo de avena con frutas (estilo Quaker)?

244 responses



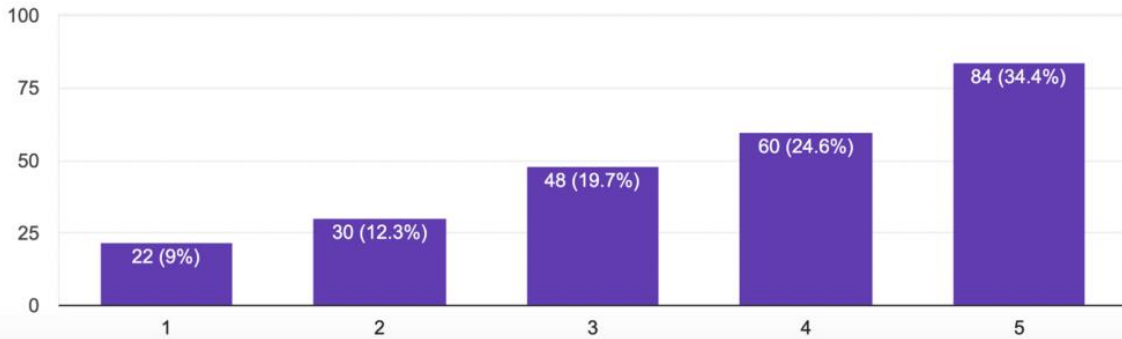
¿Qué tan regular sería su consumo de jugos de frutas ecuatorianas (taxo, naranjilla, tomate de árbol)?

244 responses



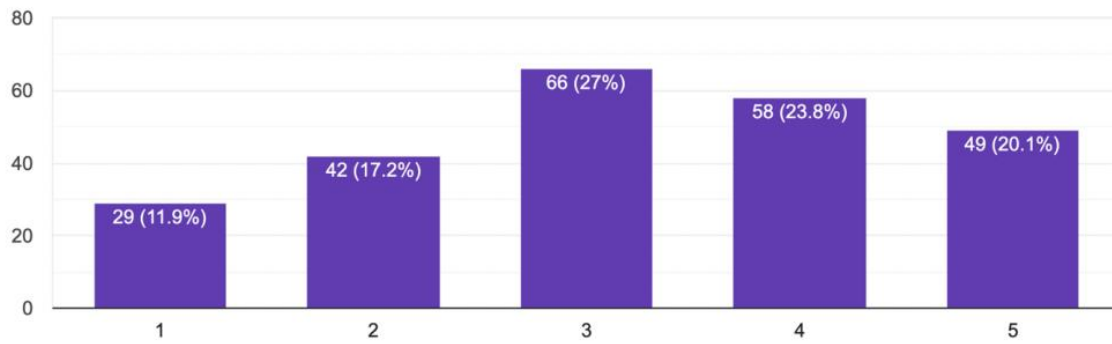
¿Qué tan atractiva considera la idea de un jugo verde con antioxidantes de mortiño?

244 responses



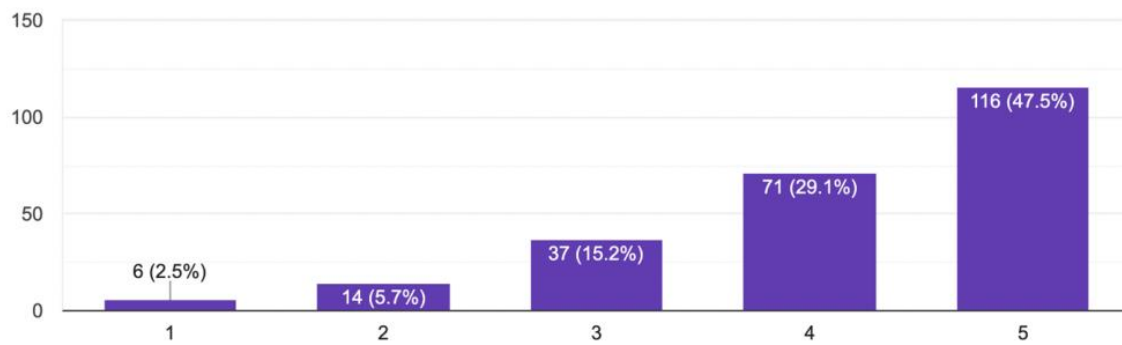
¿Qué tan atractiva considera la idea de una avena (estilo Quaker) con antioxidantes de mortiño?

244 responses



¿Qué tan atractiva considera la idea de un jugo de frutas ecuatorianas con antioxidantes de mortiño?

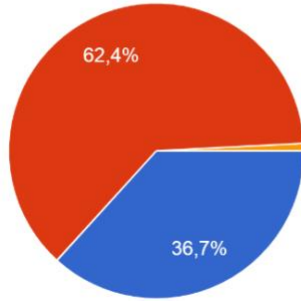
244 responses



ANEXO 4. Prueba de concepto 2

¿Cuál es su sexo?

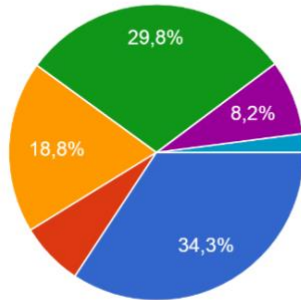
245 respuestas



- Masculino
- Femenino
- Prefiero no decirlo

¿Cuál es su edad?

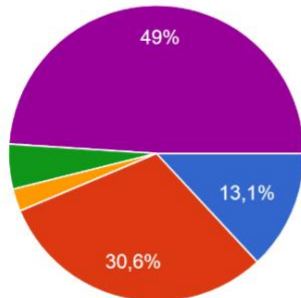
245 respuestas



- 16-25
- 26-30
- 31-40
- 41-55
- 56 - 65
- 66 en adelante

¿Qué jugo considera más nutritivo?

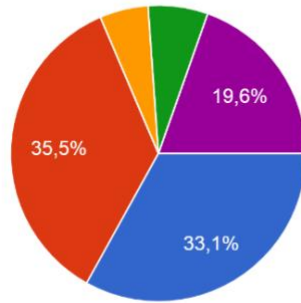
245 respuestas



- Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Piña, Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Taxo, Mango
- Maracuyá, Taxo, Mango
- Considero que todos son igual de nutritivos

¿Qué jugo considera más refrescante?

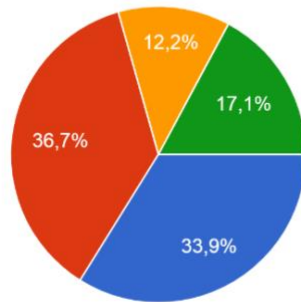
245 respuestas



- Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Piña, Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Taxo, Mango
- Maracuyá, Taxo, Mango
- Considero que todos son igual de refrescantes

¿Qué jugo considera más atractivo?

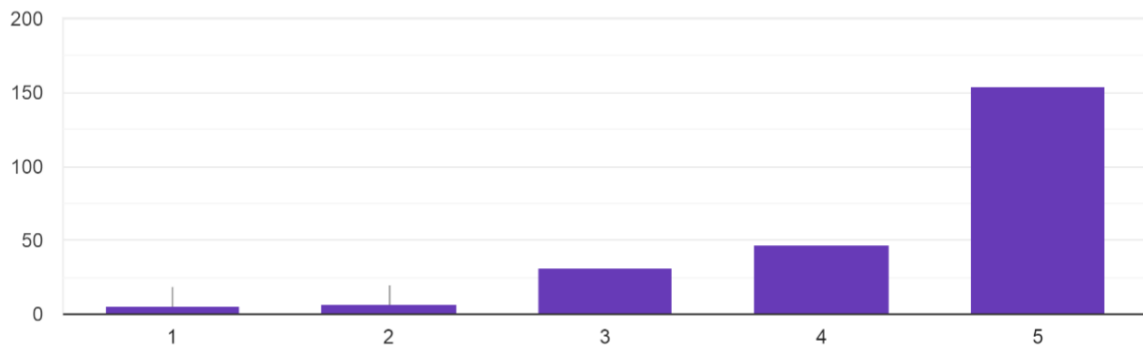
245 respuestas



- Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Piña, Mango, Maracuyá, Hierbabuena
- Taxo, Mango
- Maracuyá, Taxo, Mango

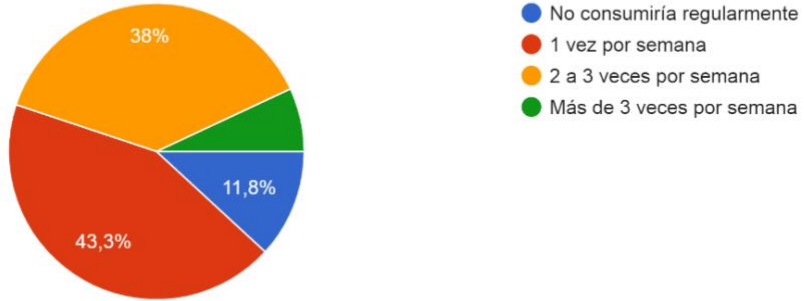
¿Qué tan atractiva considera la idea del uso de hierbabuena en los jugos?

245 respuestas



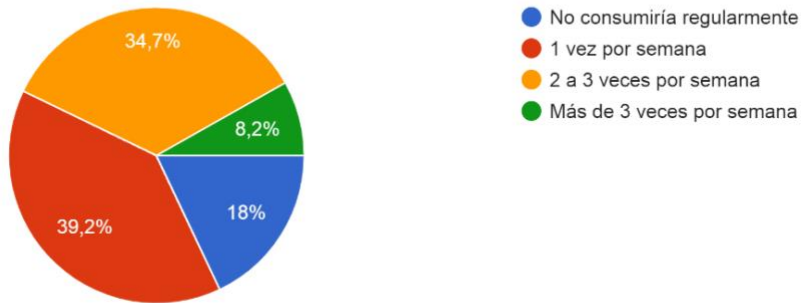
¿Qué tan regular sería su consumo de un jugo de Mango, Maracuyá y Hierbabuena?

245 respuestas



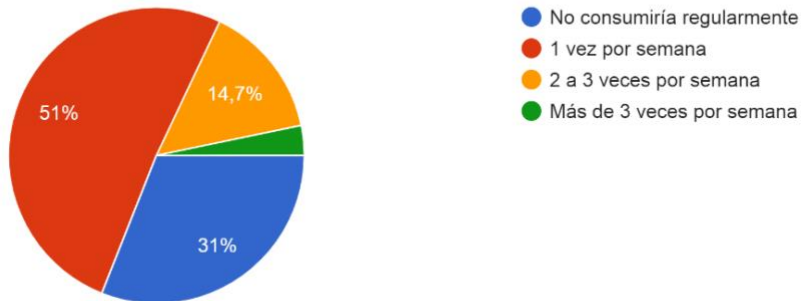
¿Qué tan regular sería su consumo de un jugo de Piña, Mango, Maracuyá y Hierbabuena?

245 respuestas



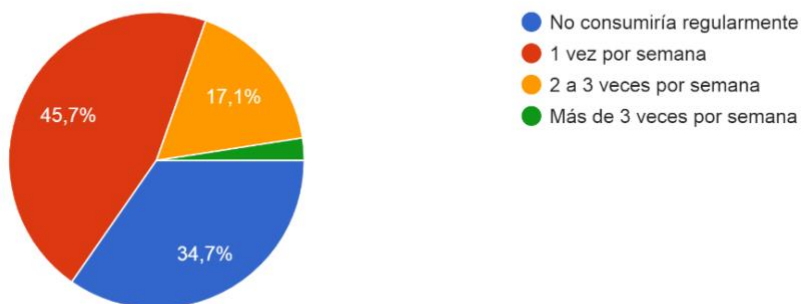
¿Qué tan regular sería su consumo de un jugo de Maracuyá, Taxo y Mango?

245 respuestas



¿Qué tan regular sería su consumo de un jugo de Taxo y Mango?

245 respuestas



ANEXO 5. Análisis de varianza ANOVA para los tratamientos de microencapsulación de antocianinas de mortiño

Tabla 12. Resumen diseño factorial de múltiples niveles

Diseño factorial de múltiples niveles			
Resumen del diseño			
Factores	2	Réplicas	3
Corridas base	6	Total de corridas	18
Bloque base	1	Total de bloques	1
Número de niveles: 3; 2			

Tabla 13. Análisis de varianza (ANOVA) de la eficiencia de encapsulación de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor P
Modelo	5	2612,7	522,54	0,000*
Lineal	3	2600,65	866,883	0,000*
Extracto	2	1807,3	903,651	0,000*
Manteca	1	793,35	793,347	0,000*
Interacciones de 2 términos	2	12,05	6,026	0,405 n.s.
Extracto*Manteca	2	12,05	6,026	0,405 n.s.
Error	12	74,2	6,183	
Total	17	2686,9	-	

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 14. Regresión factorial general: Eficiencia de encapsulación vs. Carga de extracto y Cantidad de manteca. Resumen del modelo

Resumen del modelo			
S	R ²	R ² (ajustado)	R ² (pred)
2,48661	97,24%	96,09%	93,79%

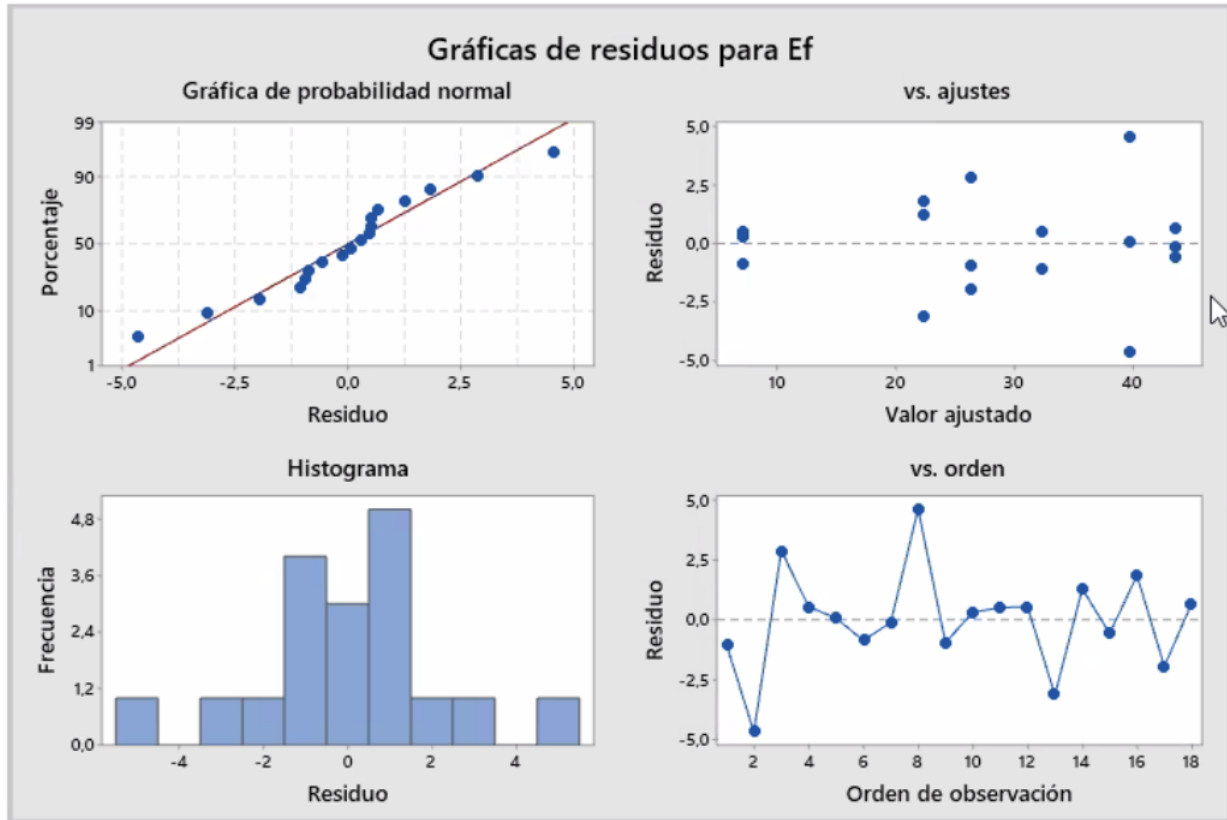


Figura 8. Gráficas de residuos para eficiencia de encapsulación

Tabla 15. Análisis de varianza (ANOVA) de liberación abrupta de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor P
Modelo	5	14945,2	2989,04	0,000*
Lineal	3	13445,8	4481,94	0,000*
Extracto	2	12515	6257,51	0,000*
Manteca	1	930,8	930,82	0,000*
Interacciones de 2 términos	2	1499,4	749,68	0,000*
Extracto*Manteca	2	1499,4	749,68	0,000*
Error	12	139,5	11,62	
Total	17	15084,7	-	

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 16. Regresión factorial general: Liberación abrupta vs. Carga de extracto y Cantidad de manteca. Resumen del modelo

Resumen del modelo			
S	R ²	R ² (ajustado)	R ² (pred)
3,40948	99,08%	98,69%	97,92%

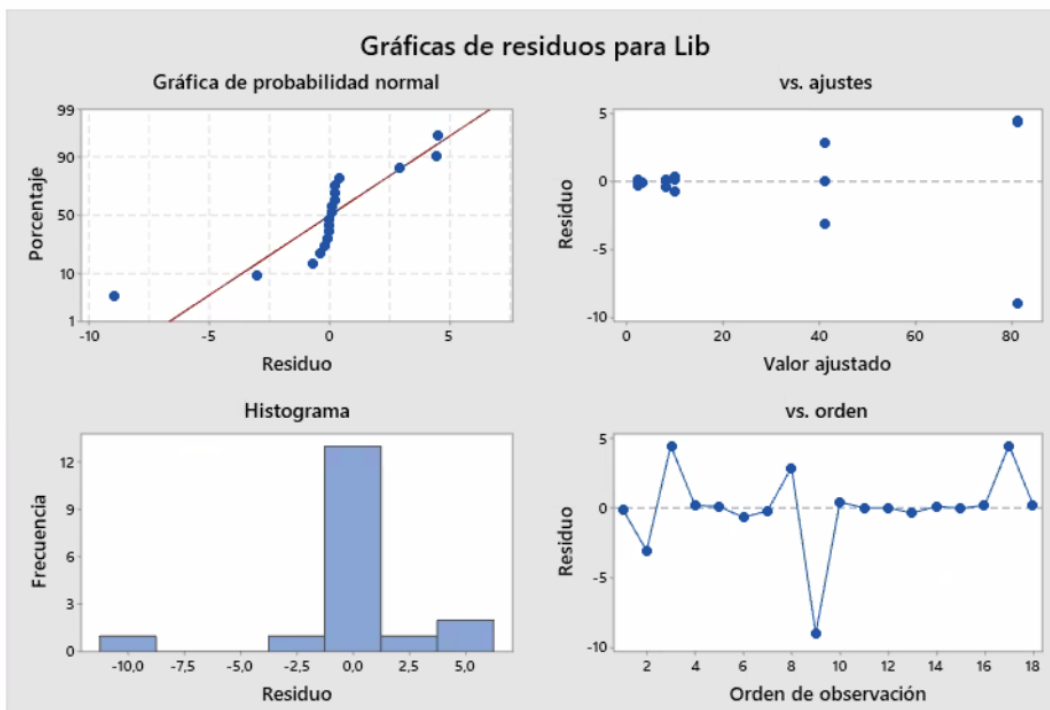


Figura 9. Gráficas de residuos para liberación

Tabla 17. Eficiencia de encapsulación vs. Carga de extracto. Comparación en parejas de Tukey

Comparaciones en parejas de Turkey			
Extracto	N	Media	Agrupación
3	6	38,02	A
1	6	33,02	A
2	6	14,71	B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

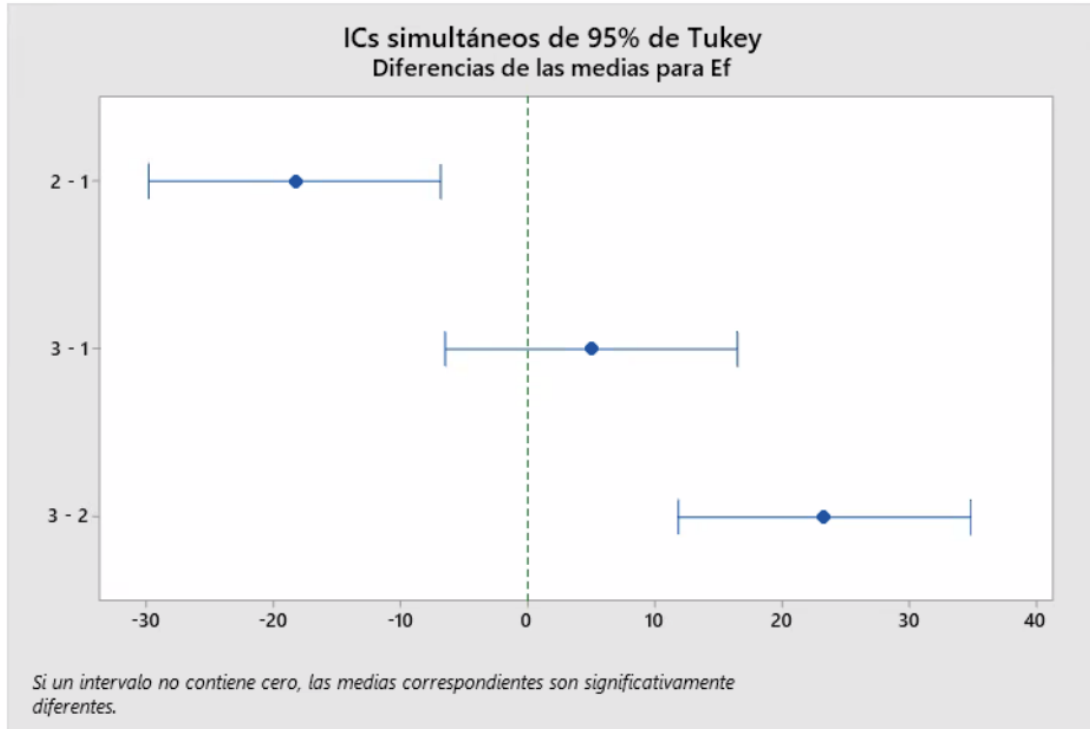


Figura 10. ANOVA de un solo factor: Ef vs. Extracto

Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) de eficiencia de encapsulación vs. Cantidad de manteca de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Manteca	1	793,3	793,3	0,000*
Error	16	1893,6	118,3	-
Total	17	2686,9	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 19. Eficiencia de encapsulación vs. Cantidad de manteca. Comparaciones en pareja de Tukey

Comparaciones en parejas de Turkey			
Manteca	N	Media	Agrupación
1	9	35,22	A
2	9	21,95	B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Tabla 20. ANOVA de un solo factor: Lib vs. Manteca. Análisis de varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Manteca	1	903,8	930,8	0,32 ^{n.s.}
Error	16	14253,9	884,6	-
Total	17	15084,7	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 21. Liberación abrupta vs. Cantidad de manteca. Comparaciones en pareja de Tukey

Comparaciones en parejas de Turkey			
Manteca	N	Media	Agrupación
2	9	31,5	A
1	9	17,14	A

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

Tabla 22. Análisis de varianza (ANOVA) de liberación abrupta vs. carga de extracto de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Extracto	2	12515	6257,5	0,000*
Error	15	2570	171,3	-
Total	17	15085	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 23. Liberación abrupta vs. Carga de extracto. Comparaciones en pareja de Tukey

Comparaciones en parejas de Turkey			
Extracto	N	Media	Agrupación
1	6	61,45	A
2	6	8,883	B
3	6	2,66	B

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

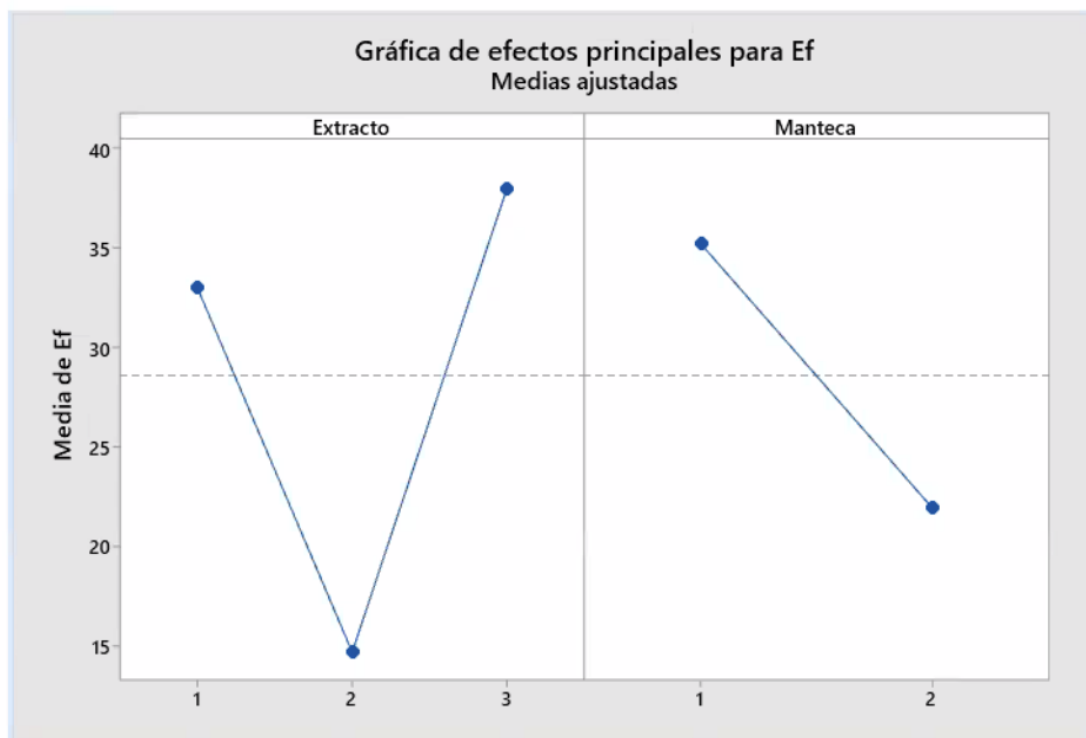


Figura 11. Gráficas factoriales para eficiencia de encapsulación

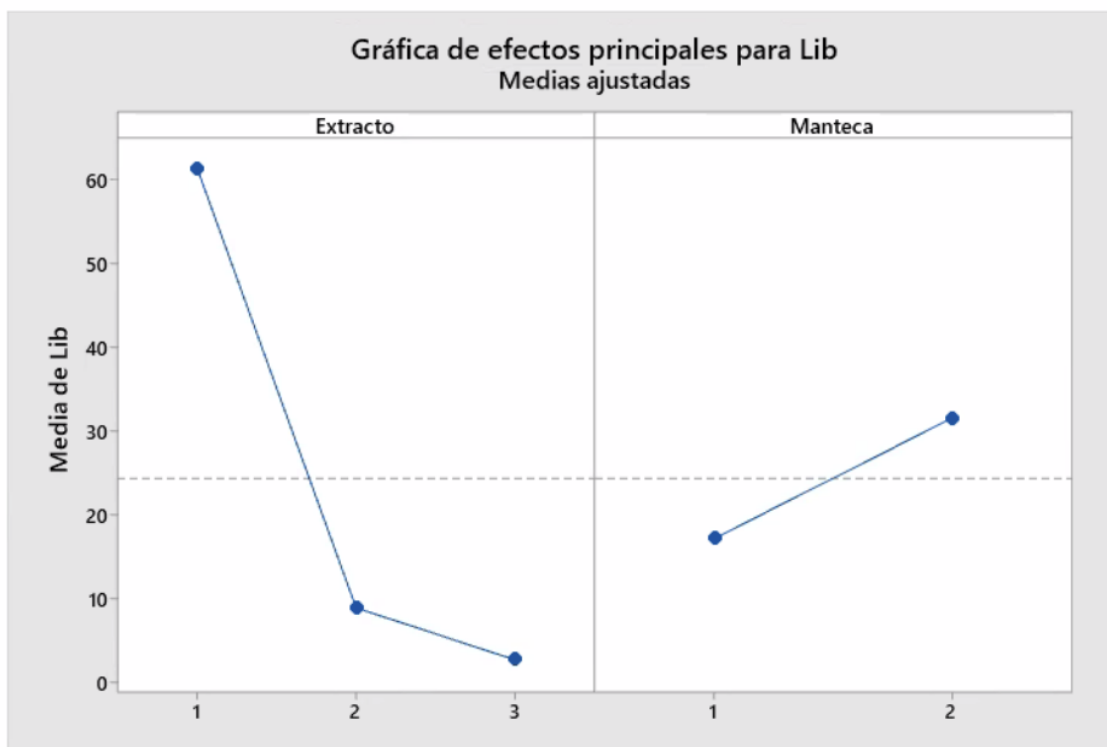


Figura 12. Gráficas factoriales para liberación abrupta

ANEXO 6. Evaluación sensorial

Consentimiento Informado

Yo _____ con identificación (CI): _____ acepto de forma voluntaria mi participación en la evaluación sensorial de “escala hedónica” de tres tipos de néctar de frutas con microencapsulado de mortiño, que forma parte de un proyecto de titulación de la Universidad San Francisco de Quito.

Me encuentro en conocimiento que algunas de las muestras que consumiré pueden contener azúcar, piña, mango, maracuyá, hierbabuena, mortiño, y manteca de cacao. Confirmando no tener ninguna restricción personal o médica que me prohíba ingerir estos alimentos. Entiendo que esta evaluación demorará alrededor de 10 minutos.

Asimismo, sé que puedo negar mi participación y retirarme en cualquier etapa de la investigación, sin expresión de causa ni consecuencias negativas para mí.

Firma: _____

Fecha: _____

Nombre: _____

Edad: _____

Fecha: 02.12.2022

Sexo: M / F

Frente a usted se presentan tres muestras de néctar de frutas. Por favor, prueba las muestras de izquierda a derecha y evalúe cada uno de los atributos indicados y su percepción global. Entre las evaluaciones de las muestras tome un poco de agua, muerda un bocado de galleta de soda, y espere 30 segundos antes de probar la siguiente muestra. Escriba el número de la escala establecida de acuerdo con su criterio en el casillero correspondiente al código de cada muestra según el atributo evaluado. En caso de tener algún comentario, se dispone en la parte inferior un espacio para esta información.

7	Me gusta extremadamente
6	Me gusta mucho
5	Me gusta moderadamente
4	No me gusta ni me disgusta
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta extremadamente

COLOR

524	713	182

SABOR

524	713	182

GLOBAL

524	713	182

VISCOSIDAD

524	713	182

ACIDEZ

524	713	182

Comentarios:

RESULTADOS EVALUACIÓN SENSORIAL

- **COLOR**

Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado del color de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Muestra	2	6,785	3,3925	0,001*
Jueces	61	153,312	2,5133	0,000*
Error	122	55,882	0,458	-
Total	185	215,978	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

Tabla 25. Color de los tratamientos. Comparaciones en parejas de Tukey

Muestra	N	Media
524	62	5,581 ± 1,02 ^a
713	62	5,339 ± 1,05 ^{ab}
182	62	5,113 ± 1,13 ^a

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

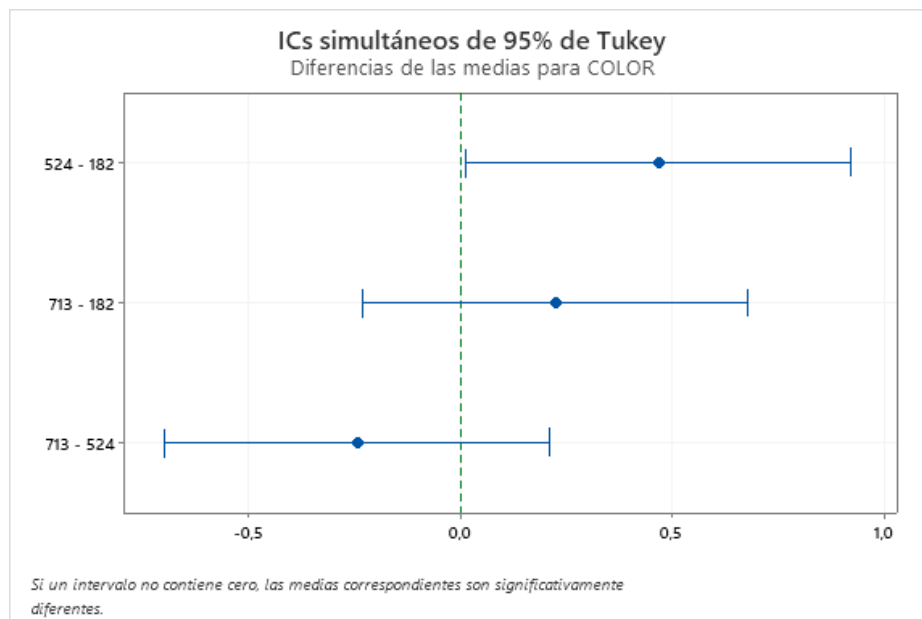


Figura 13. Diferencias de las medias para COLOR

- **SABOR**

Tabla 26. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado del sabor de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Muestra	2	2,613	1,306	0,319 ^{n.s.}
Jueces	61	168,285	2,759	0,000*
Error	122	138,054	1,132	-
Total	185	308,952	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

- **VISCOSIDAD**

Tabla 27. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado de viscosidad de los tratamientos.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Muestra	2	2,462	1,231	0,321 ^{n.s.}
Jueces	61	177,79	2,915	0,000*
Error	122	130,871	1,073	-
Total	185	311,124	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

- **ACIDEZ**

Tabla 28. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado de la acidez de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Muestra	2	8,462	4,231	0,058 ^{n.s.}
Jueces	61	242,414	3,974	0,000*
Error	122	177,538	1,455	-
Total	185	428,414	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$

- GLOBAL

Tabla 29. Análisis de varianza (ANOVA) del nivel de agrado global para los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor p
Muestra	2	1,581	0,7903	0,445 n.s.
Jueces	61	112,903	1,8509	0,001*
Error	122	118,419	0,9707	-
Total	185	232,903	-	-

*Significativo a valor $p \leq 0,05$

n.s. No significativo a valor $p > 0,05$