

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Análisis de la estabilidad de polifenoles extraídos de diferentes
frutos rojos y microencapsulados a través de secado por aspersión**

Luvidka Anahí Villalobos Pozo

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniera Química

Quito, 19 de diciembre de 2023

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Análisis de la estabilidad de polifenoles extraídos de diferentes frutos rojos
y microencapsulados a través de secado por aspersión**

Luvidka Anahí Villalobos Pozo

Nombre del profesor, Título académico

José Álvarez B., Ph.D.

Lucía Ramírez, Ph.D.

Quito, 19 de diciembre de 2023

© 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: Luvidka Anahí Villalobos Pozo

Código: 00212945

Cédula de identidad: 1005269335

Lugar y fecha: Quito, 19 de diciembre de 2023

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UNPUBLISHED DOCUMENT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

Los antioxidantes son compuestos químicos ligados a los fenoles, presentes en diversas frutas, de gran importancia en el consumo humano debido a sus diferentes beneficios funcionales, sin embargo, estas propiedades se pueden perder debido a factores ambientales que alteran la estructura de las moléculas y reducen la actividad antioxidante. Por este motivo es necesario investigar técnicas de empaquetamiento, como el secado por aspersion, que permitan conservar a estos principios bioactivos, pero asimismo se debe considerar la matriz alimentaria de la que provienen los compuestos fenólicos. El objetivo de este estudio es evaluar la aplicación de la microencapsulación mediante secado por aspersion como estrategia para la conservación de polifenoles provenientes de diferentes frutos rojos y considerar la influencia del origen de las antocianinas. Se aplicó un diseño experimental completamente aleatorizado con un único factor de estudio (Tipo de fruta), que permitió analizar los resultados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la diferencia de medias por la prueba de Tukey al 5% de probabilidad. Se utilizó maltodextrina (20%) como material microencapsulante en proporción 1:6 (extracto:maltodextrina). Los resultados mostraron que después de la microencapsulación existió reducción de antocianinas y polifenoles en todas las frutas de estudio, pero la actividad antioxidante aumentó en el caso de la mora y el capulí. Además, se demostró que la matriz alimentaria si influye en el tamaño y morfología de las partículas, mientras que en pruebas de rendimiento, humedad y color la diferencia no fue significativa ($p > 0.05$).

Palabras clave: polifenoles, actividad antioxidante, antocianinas, maltodextrina, microencapsulación, secado por aspersion.

ABSTRACT

Antioxidants are chemical compounds linked to phenols, present in various fruits, of great importance in human consumption due to their different functional benefits, however, these properties can be lost due to environmental factors that alter the structure of the molecules and reduce antioxidant activity. For this reason, it is necessary to investigate packaging techniques, such as spray drying, that allow these bioactive ingredients to be preserved, but the food matrix from which the phenolic compounds come must be considered. The objective of this study is to evaluate the application of microencapsulation by spray drying as a strategy for the preservation of polyphenols from different red fruits and to consider the influence of anthocyanin origin. A completely randomized experimental design was applied with a single study factor (type of fruit), which allowed the results to be analyzed using an analysis of variance (ANOVA) and the mean difference by Tukey's test at 5% probability. Maltodextrin (20%) was used as a microencapsulating material in a 1:6 ratio (extract:maltodextrin). The results showed that after microencapsulation there was a reduction in anthocyanins and polyphenols in all the fruits studied, but the antioxidant activity increased in the case of blackberry and andian berry. In addition, it was shown that the food matrix does influence the size and morphology of the particles, while, in yield, humidity, and color test the difference was not significant ($p > 0.05$).

Key words: polyphenols, antioxidant activity, anthocyanins, maltodextrin, microencapsulation, spray drying.

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	5
Abstract	6
1. Introducción	11
1.1. Materiales	14
1.2. Índice de madurez de las frutas	14
1.3. Diseño experimental	16
1.4. Extracción de antocianinas de las frutas	16
1.5. Cuantificación de antocianinas	16
1.6. Cuantificación de polifenoles totales	18
1.7. Actividad antioxidante	18
1.8. Microencapsulación mediante secado por aspersión	19
1.9. Caracterización de microcápsulas	20
1.9.1. Humedad	20
1.9.2. Rendimiento	20
1.9.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	20
1.9.4. Color de las partículas	21
2. Resultados y Discusiones	22
3. Conclusiones	34
4. Observaciones y Recomendaciones	34

5. Referencias Bibliográficas	36
6. Anexos	43
Anexo 1. Protocolos de laboratorio para pruebas cuantitativas	43
Anexo 1.1. Protocolo para cuantificación de antocianinas	43
Anexo 1.2. Protocolo para determinación de la concentración de polifenoles totales.....	44
Anexo 1.3. Protocolo para medición de actividad antioxidante.....	46
Anexo 2. Tablas de Análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey para las diferentes pruebas realizadas.	49
Anexo 2.1. Análisis estadístico de la concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos	49
Anexo 2.2. Análisis estadístico de la concentración de polifenoles totales en los tratamientos.	50
Anexo 2.3. Análisis estadístico de la actividad antioxidante en los tratamientos.....	51
Anexo 2.4. Análisis estadístico de la caracterización física de las partículas	53
Anexo 3. Resumen de los datos obtenidos para las pruebas cuantitativas realizadas.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Índice de madurez de las bayas utilizadas	22
Tabla 2: Caracterización de microcápsulas	32
Tabla 3: Tamaño de partícula de muestras microencapsuladas	32
Tabla 4: Estándares utilizados en la curva de calibración para cuantificación de polifenoles totales	45
Tabla 5: Estándares utilizados en la curva de calibración para la determinación de actividad antioxidante.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Escala de madurez visual para el mortiño.....	15
Figura 2: Escala de madurez visual para la mora	15
Figura 3: Concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos.....	23
Figura 4: Concentración de polifenoles totales en los tratamientos.	25
Figura 5: Actividad antioxidante en los tratamientos.	27
Figura 6: Capacidad antioxidante relativa en los tratamientos (extractos).....	29
Figura 7: Capacidad antioxidante relativa en los tratamientos (microencapsulados)	29
Figura 8: Morfología de micro partículas vista desde un microscopio electrónico de barrido.	33

1. Introducción

Las antocianinas son compuestos fenólicos, conocidas por ser los pigmentos responsables del color rojo, morado y azul de muchas frutas, verduras y cereales [1]. Estos compuestos corresponden a la forma glicosilada de antocianidinas; la cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina son las antocianidinas más comunes distribuidas en las plantas. La distribución de estas antocianidinas en frutas y verduras es del 50%, 12%, 12%, 12%, 7% y 7%, respectivamente [2]. Los compuestos fenólicos presentes en las bayas, entre los que se encuentran las antocianinas, tienen efectos anticancerígenos, antioxidantes, antineurodegenerativos y antiinflamatorios, así como propiedades antimicrobianas contra bacterias patógenas [3]. Sin embargo, factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento [4]. Para evitar la degradación de estos compuestos existen diferentes técnicas de conservación, como la microencapsulación.

En la microencapsulación, los compuestos sólidos, líquidos o gaseosos son empacados con un segundo material a manera de cascarón para proteger el compuesto activo fundamental; esta técnica se utiliza para brindar mayor estabilidad de diversos compuestos activos frente a la oxidación o a cualquier reacción degenerativa que ocurra en el ambiente [5]. Las microcápsulas suelen tener un diámetro entre 0,2 y 5000 μm , y contienen compuestos bioactivos protegidos de la humedad, el oxígeno y la luz. Esta técnica de empaquetamiento crea una especie de barrera para controlar la liberación, la solubilidad y la biodisponibilidad; facilita la manipulación y el transporte; y también puede enmascarar sabores y aromas desagradables. Además, el tamaño de la partícula depende de factores como el método de microencapsulación y el material encapsulante [6]. Existen diferentes especies que se pueden utilizar como material encapsulante, siendo la maltodextrina una de las más importantes.

La maltodextrina es un polisacárido formado por β -D-Glucosas unidas por enlaces glucosídicos, tiene alta solubilidad en agua, baja viscosidad, sabor neutro, forma soluciones incoloras, y es fácil de encontrar en el mercado; generalmente se utiliza para evitar pegajosidad y aglomeración durante el almacenamiento de productos [7]. Contiene entre 2 y 3% de glucosa y entre 5 y 7% de maltosa; se puede convertir por aspersión en un polvo seco higroscópico de color blanco, ligeramente dulce, casi insípido, fácilmente dispersable y con baja solubilidad en alcohol [8]. A nivel industrial estas características descritas llegan a ser de importancia cuando se requiere llevar a cabo un proceso de microencapsulación y se escoge una tecnología como el secado por aspersión.

El secado por aspersión es una técnica de microencapsulación que se puede utilizar para guardar material activo dentro de una matriz protectora de un polímero y es comúnmente utilizada en la industria de alimentos por la disponibilidad del equipo y los costos bajos [9]. Comparado con otros métodos, el secado por aspersión es una operación sencilla y económica, además de que es adecuada para especies sensibles al calor como los compuestos fenólicos debido a que las temperaturas de operación generalmente son inferiores a 200°C y el tiempo de residencia de las partículas es de únicamente varios segundos [10]. Dentro del proceso de secado la temperatura es importante ya que altos valores provocan, en la matriz alimentaria, una pérdida importante de los compuestos antioxidantes que son fotosensibles y termosensibles; asimismo, tiempos de secado prolongados pueden destruir algunos de los compuestos fenólicos por la unión de estos a proteínas en ausencia de agua [11]. Se han realizado estudios sobre la microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión y utilizando maltodextrina, para luego analizar sus propiedades físicas y estabilidad, para estos experimentos se ha variado la temperatura de entrada y la concentración de maltodextrina [12], sin embargo, no se ha evaluado cuál es el efecto que puede presentar la fuente de antioxidantes

en el proceso de microencapsulación, lo que abre una brecha de investigación para el presente estudio.

En Ecuador existe una gran producción de frutos rojos, pero una importante cantidad es desperdiciada debido a un incorrecto manejo post cosecha lo que causa rechazo por parte de los consumidores. Velásquez [13] menciona que la transpiración de las frutas en la post cosecha provoca cambios en las propiedades sensoriales como textura, color, sabor y aroma debido a reacciones bioquímicas ocurridas en los componentes celulares, estas alteraciones guardan relación con factores internos del fruto como especie, variedad e incluso almacenamiento.

Los principios bioactivos de los frutos rojos tienen un importante efecto funcional, Herrera et al. [14] explican que previenen el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas no transmisibles y cuentan con la capacidad de regular procesos fisiológicos, pero su sensibilidad a la degradación hace que su estabilidad y biodisponibilidad se vean afectadas, haciendo necesaria la aplicación de métodos como la microencapsulación para reducir su degradación y que puedan ser aprovechados de mejor manera.

Con el presente proyecto se buscó evaluar la aplicación de la microencapsulación mediante secado por aspersión como estrategia para la conservación de polifenoles provenientes de diferentes frutos rojos. Para lograrlo se comparó el contenido polifenoles en extractos de tres frutos rojos (mortiño, mora y capulí) y su capacidad antioxidante, después se realizó el proceso de microencapsulación a los extractos ricos en polifenoles para luego de este procedimiento evaluar el efecto de la microencapsulación sobre los parámetros antes mencionados.

2. Metodología

2.1. Materiales

Se utilizaron tres frutas de amplio consumo en la sierra ecuatoriana; mortiño (*Vaccinium floribundum*), mora (*Rubus ulmifolius*) y capulí (*Prunus salicifolia*) que fueron obtenidas de mercados de la ciudad de Ibarra; las bayas elegidas no tenían daños en la superficie y se determinó su grado de madurez en base a los estudios propuestos en la sección 1.2.

Para la microencapsulación se utilizó maltodextrina distribuida por RELUBQUIM CIA. LTDA. Los reactivos químicos utilizados durante el proceso fueron ácido clorhídrico al 37%, metanol al 96%, acetato de sodio, hidróxido de sodio, cloruro de potasio, Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) , acetato de sodio trihidratado, 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), cloruro férrico hexahidratado, Folin, carbonato de sodio y maltodextrina.

2.2. Índice de madurez de las frutas

Se utilizaron dos metodologías para evaluar el índice de madurez de las frutas, una relacionada con escalas de color, tomando como referencias trabajos anteriores [15] [16], y una con pruebas químicas según protocolos ya establecidos.

En el caso del mortiño, la baya presenta diferentes colores dependiendo a su grado de madurez; va desde un color verde intenso, tanto en la piel como en la pulpa, hasta llegar a un color morado oscuro en la piel y verde menos intenso en la pulpa [15]. Para este estudio se utilizaron frutos entre los valores 4 y 5 de la escala presentada en la Figura 1.

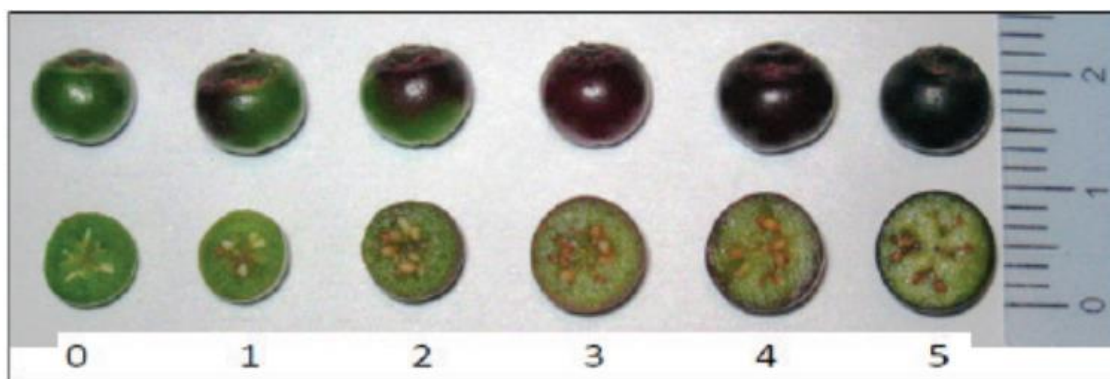


Figura 1: Escala de madurez visual para el mortiño

Por otra parte, la mora varía su color dependiendo de su grado de madurez, va desde un color verde pálido con algunas partes rojas hasta llegar a un color morado oscuro en toda la fruta [16]. Para este proyecto se utilizaron frutos entre los valores 5 y 6 de la escala propuesta en la Figura 2.



Figura 2: Escala de madurez visual para la mora

En el caso del capulí, no existió una referencia visual pero se tomó como base la escala del mortiño.

El análisis químico de este parámetro fue calculado mediante la razón entre la cantidad de sólidos solubles de la fruta ($^{\circ}\text{Brix}$) medidos bajo el método NTE INEN 380 [17] y la acidez titulable, expresada en gramos de ácido cítrico por litro de zumo de fruta, obtenida por el procedimiento NTE INEN 381[18], como lo muestra la ecuación (1).

$$IM = \frac{\text{Sólidos solubles } (^{\circ}\text{Brix})}{\text{Acidez Titulable } (\%\text{Ácido})} \quad (1)$$

2.3. Diseño experimental

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con un único factor de estudio (Tipo de fruta) y 3 niveles (mortiño, mora y capulí). Se realizaron 4 repeticiones y se obtuvieron 12 unidades experimentales. Los datos finales corresponden a los promedios de estos datos con sus respectivas desviaciones estándar.

Las variables de respuesta analizadas fueron la concentración de antocianinas monoméricas, polifenoles totales, actividad antioxidante, humedad, rendimiento y diámetro de las micropartículas. Todos los datos fueron analizados con el software Minitab 19, a través de un análisis de varianza (ANOVA) y la diferencia de medias por la prueba de Tukey al 5% de probabilidad.

2.4. Extracción de antocianinas de las frutas

Se siguió el protocolo establecido por Cajiao y Luna [19]. La fruta fue lavada con agua potable para eliminar residuos sólidos y triturada en un procesador de alimentos Continental Mini Chopper hasta obtener una pasta (de cada una de las bayas utilizadas) que fue colocada en fundas de cierre hermético y almacenada a -15°C .

Se colocaron 50 g de pasta homogénea en botellas ISO con tapa, y para cada fruta, se añadió 200 ml de una solución de etanol al 20% acidificado con HCl hasta pH 1, se agitó la mezcla y se colocaron los frascos en baño maría (Thermo Scientific Precision SWB 15) durante 4 horas a 60°C y agitación de 35 rpm. Se separaron los sólidos a través de un colador para obtener un licor limpio que fue filtrado al vacío (QE Quality QVP-400). El extracto fue concentrado en un rotaevaporador Dlab Re100-Pro a 54°C y 30 rpm.

2.5. Cuantificación de antocianinas

Fue realizada de acuerdo al método de la AOAC [20], para la determinación de antocianinas monoméricas en diferentes muestras, mediante la técnica de pH diferencial. El

contenido de antocianinas se reporta en función de la antocianidina-3-glucósido, como mg de antocianina por cada 100 gramos de fruta, al considerarla la antocianina más común en las frutas comercializadas y consumidas por las personas, como lo explican Pascual y Sánchez [21].

El extracto de cada fruta fue diluido con cada una de las soluciones buffer (Acetato de sodio 0.4 M, pH 4.5 y Cloruro de potasio 0.025M, pH 1) en proporción 1:20 respectivamente. Se aplicó el mismo procedimiento para la cuantificación en las muestras microencapsuladas, pero con diluciones 1:10 (microcápsulas: alcohol ácido).

Se utilizó un espectrómetro Thermo Scientific UV-Visible Genesys 50. Para corregir errores y establecer una línea base se analizó un blanco correspondiente al buffer utilizado con un barrido entre 450 y 750 nm. Luego, se tomaron las diluciones preparadas, se analizaron en celdas de cuarzo con una longitud de recorrido de 1 cm y se aplicó la misma técnica de barrido entre las longitudes de onda ya indicadas. El ensayo fue realizado con todas de las muestras de las diferentes frutas para los dos buffers (pH 1 y pH 4.5), a 520 y 700 nm [20].

La absorbancia final se calculó para cada muestra de acuerdo a la ecuación (2).

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4.5} \quad (2)$$

La concentración de antocianinas corresponde a equivalentes de cianidina-3-glucósido, según la ecuación (3).

$$\text{Antocianinas monoméricas} \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{A \cdot MW \cdot FD \cdot 100}{\epsilon \cdot b} \quad (3)$$

Donde, A es la absorbancia corregida que se calculó con la ecuación (1), MW la masa molar (MW: 449.2), FD el factor de dilución (FD: 20), ϵ la absortividad molar (ϵ : 26900) y b la longitud de la celda utilizada (b: 1).

En el Anexo B.1 se encuentra el protocolo detallado de laboratorio para esta prueba.

2.6. Cuantificación de polifenoles totales

Se siguió el método de Folin-Ciocalteu explicado por Musci y Yao [22]. Fue necesario realizar una curva de calibración como lo indica el Anexo B.2, a partir de la que se calculó la concentración de fenoles totales en función de la concentración de ácido gálico (mM).

Cada extracto de fruta fue diluido con agua destilada (1:20). Se utilizó el mismo procedimiento para las muestras microencapsuladas, pero con diluciones 1:10 en proporción microcápsulas: alcohol ácido. Para la preparación de muestras se mezcló 100 µl de extracto diluido anteriormente con 500 µl de solución de Folin; después de 5 minutos se agregaron 400 µl de solución de carbonato de sodio y, luego de 2 horas se continuó con el análisis.

Las mediciones tanto para los estándares como para las muestras se llevaron a cabo con la técnica de espectrofotometría UV-Visible en el equipo Thermo Scientific UV-Visible Genesys 50. Para corregir interferencias y establecer una línea base se analizó un blanco (200 µl de agua con 1 ml de Folin) a 760 nm. Una vez pasadas las 2 horas se tomaron las muestras preparadas y se midieron en celdas de cuarzo con una longitud de recorrido de 1 cm a la longitud de onda ya indicada para obtener la absorbancia correspondiente.

En el Anexo B.2 se encuentra el protocolo de laboratorio detallado para esta prueba.

2.7. Actividad antioxidante

Fue determinada por el método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) que se basa en la capacidad de reducción del hierro (férrico a ferroso), y analiza el comportamiento de las defensas antioxidantes presentes en plantas o frutas bajo condiciones de pH ácido estandarizado junto con la reacción de reducción del compuesto hierro-tripyridyl-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) [23].

Se realizó una curva de calibración, como se explica en el Anexo B.3, para calcular actividad antioxidante de cada muestra expresada en Equivalentes de Trolox por mililitro de extracto.

Los extractos fueron diluidos en proporción 1:100 (extracto: agua destilada). Se utilizó el mismo procedimiento para las muestras microencapsuladas con diluciones 1:10 (microcápsulas: alcohol ácido). Se mezclaron 900 μ l de solución FRAP (recién preparada) con 100 μ l de extracto diluido, después de agitación y reposo se midió la absorbancia.

La medición tanto de estándares como de muestras siguió la técnica de espectrofotometría UV-Visible utilizando el equipo Hanon i3. Se preparó un blanco (900 μ l de reactivo FRAP y 100 μ l de agua destilada) para eliminar cualquier interferencia. Después de 15 minutos de reposo se midió la absorbancia colocando las muestras en celdas de plástico con longitud de recorrido de 1 cm y a 539 nm. El ensayo fue realizado con todas de las muestras de las diferentes frutas.

En el Anexo B.3 se encuentra el protocolo de laboratorio para esta prueba.

2.8. Microencapsulación mediante secado por aspersión

Algunas de las condiciones propuestas por Piñón- Balderrama et al. [24] fueron seguidas en la presente investigación. Se utilizó la matriz inicial de los extractos, es decir alcohol ácido, y se igualó la concentración de antocianinas para todos los extractos.

La microencapsulación mediante secado por aspersión se efectuó en el Spray Dryer OLT-SD8000B, según las condiciones de operación indicadas en el manual del equipo y de la literatura antes mencionada. La temperatura de microencapsulación fue de 180°C, la velocidad de la bomba peristáltica fue seteada en 30 y la aguja de inyección en 6 segundos. El material micro encapsulante utilizado para todas las frutas fue maltodextrina al 20% m/v; para formar el complejo se combinó esta solución con los extractos antes preparados en proporción 1:6

(extracto: maltodextrina), como lo recomienda la literatura [25]. Estas soluciones fueron pesadas y se registraron sus grados brix.

Al finalizar el proceso de microencapsulación se pesó el producto obtenido y se almacenó a temperatura ambiente en fundas aluminizadas para evitar su degradación por exposición a la luz.

2.9. Caracterización de microcápsulas

2.9.1. Humedad

Se utilizó una termo balanza Mettler Toledo HB43 para determinar la humedad en 0.5 g de cada muestra de tratamiento microencapsulado.

2.9.2. Rendimiento

Fue calculado según el método gravimétrico utilizado en estudios previos [26] (ecuación 4) que considera la relación entre sólidos disueltos en las soluciones de alimentación para el proceso de microencapsulación medidos con un refractómetro digital para azúcares (Milwaukee) y la masa final de micro encapsulado pesada en una balanza analítica Melter Toledo PB3002.

$$\%R = \frac{D \cdot x_D}{L \cdot x_L} \cdot 100 \quad (4)$$

Donde, L es la masa del líquido de alimentación, D la masa del polvo obtenido, x_D la fracción de sólidos en el polvo obtenido y x_L la fracción de sólidos en el líquido de alimentación.

2.9.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de las microcápsulas fue analizada por microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés), en el equipo JSM-IT3000LA con un voltaje de 20 kV y una presión de 40 P.C. Se realizó un recubrimiento de oro a las partículas en el equipo Sputter

Coater Cressington 108 auto. Los acercamientos utilizados fueron de 1000X y 3500X para observar las diferencias entre las micro-partículas.

2.9.4. Color de las partículas

Una muestra de cada microencapsulado fue colocada en contacto directo con el colorímetro Konica Minolta CR 410. El sistema de coordenadas utilizado fue L^*a^*b , donde L representa la luminosidad, a las coordenadas rojo/verde (+a rojo, -a verde) y b las coordenadas amarillo/azul (+b amarillo, -b azul).

3. Resultados y Discusiones

La Tabla 1 muestra el índice de madurez de las frutas al relacionar los grados brix y la acidez titulable. Saltos et al. [16] recomiendan que un índice de madurez óptimo para el mortiño está entre 2.43 y 2.97 ya que en esta etapa su pigmentación es mayor, lo que se relaciona con una alta concentración de antocianinas. Para la mora, Farinango [27] reporta un índice de madurez de 2.79 como adecuado para el uso de la fruta en la obtención de extractos o consumo directo. Para el capulí no se encontró un índice de madurez ideal, pero Castillo [28] establece que sus grados brix deben ser cercanos a 16.5 para tener buenas propiedades sensoriales.

Tabla 1: Índice de madurez de las bayas utilizadas

	°Brix	Acidez titulable [gÁc. Cítrico/100g]	Índice de madurez
Capulí	11.10 ± 0.24 ^A	0.94 ± 0.04 ^C	14.18 ± 0.14 ^A
Mora	12.15 ± 0.06 ^B	1.14 ± 0.04 ^B	10.68 ± 0.31 ^B
Mortiño	13.48 ± 0.10 ^C	1.32 ± 0.04 ^A	8.38 ± 0.53 ^C

*Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si ($p > 0.05$)

Saltos et al. [16], mencionan que el proceso de maduración está relacionado con la cantidad de sólidos solubles y la acidez; además, las condiciones ambientales pueden perjudicar el desarrollo de la fruta. Se observa que todas las frutas presentan un índice de madurez alto, que va de acuerdo a la escala sensorial presentada anteriormente. Sin embargo, a pesar de que las bayas fueron visualmente iguales, su acidez titulable y sus grados brix se reportaron como estadísticamente diferentes. Los índices de madurez con los que se trabajó en este experimento fueron mayores a los presentados por la literatura, en relación a las referencias encontradas [15], [16], por lo tanto, se comprueba que este parámetro si es afectado por el origen de la fruta.

Como se observa en la Figura 3.a (Anexo B.1) hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) en la concentración de antocianinas monoméricas entre los extractos de mortiño, mora y capulí (tratamientos). El mortiño presentó una concentración de (96.77 ± 5.91) mg/100 g fruta, menor

a 129.59 mg/100 g reportada por Arteaga, Andrade y Moreno [29]. En la mora se cuantificó (26.53 ± 3.31) mg/100 g fruta, que fue menor a 147.80 mg/100 g determinado por Ramírez [30], esta diferencia se debe a factores como: el clima, el área de producción, la variedad y del grado de madurez de la fruta. En el capulí se cuantificaron (13.30 ± 1.80) mg de antocianinas monoméricas/100 g fruta, similar a 10.71 mg/100 g encontrado por Ruiz y Venegas [31].

No hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) en la concentración de antocianinas monoméricas entre los microencapsulados de mora y capulí, pero si entre estas dos frutas y el mortiño (Anexo B.1 y Figura 3.b). Las concentraciones de antocianinas en los microencapsulados fueron: (21.39 ± 0.15) g/100 g en el mortiño, (10.13 ± 0.07) mg/100 g en la mora y (8.09 ± 0.07) mg/100 g en el capulí.

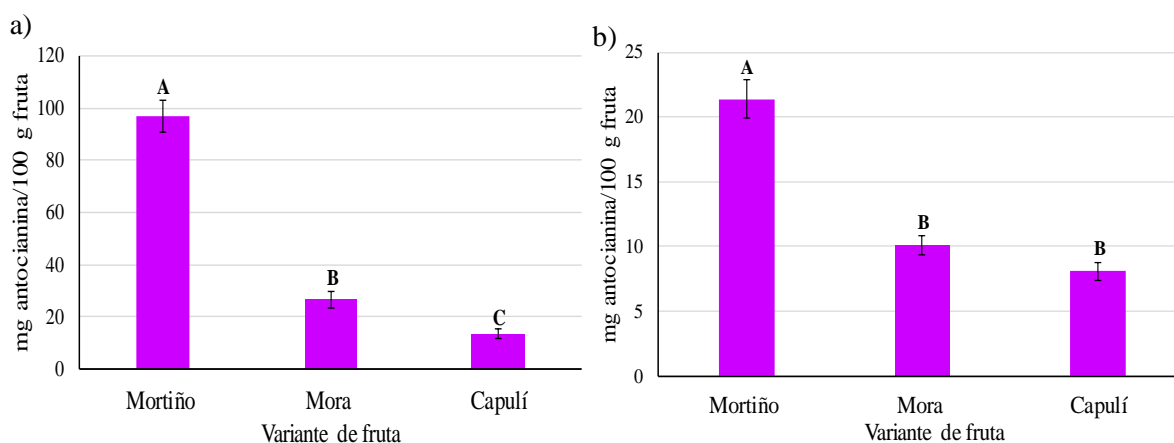


Figura 3: Concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos.

Extractos. b) Microencapsulados.

Medias con al menos una misma letra no difieren entre si ($p > 0.05$)

Al comparar la concentración de estos compuestos antes y después de la microencapsulación se observó una disminución en la concentración de antocianinas monoméricas en todas las frutas. Diversos parámetros pueden explicar este fenómeno, como lo menciona Sánchez [32], la temperatura afecta la estabilidad y estructura de las antocianinas, degradándolas y haciendo que su concentración disminuya. Sin embargo, existen factores de protección para estas moléculas como la presencia de azúcares y un medio ácido. A altas

concentraciones de azúcares se preservan las antocianinas, la glucosa, sacarosa y maltosa inhiben la formación de productos de degradación; así mismo si se mantiene un pH ácido las antocianinas se encuentran en su forma más estable que es la del catión flavilo, y a medida que el pH cambie pueden perder protones haciendo que su estructura se altere y por lo tanto pierdan su estabilidad. El proceso de microencapsulación se desarrolló a 180°C y pudo haber provocado la reducción mencionada, no obstante, el material de microencapsulación utilizado fue maltodextrina, y todos los extractos se mantuvieron a pH ácido hasta el momento de la microencapsulación, lo que brinda un soporte de protección para estos compuestos.

Los polifenoles son un grupo heterogéneo que incluye a las antocianinas y presentan estructuras químicas que pueden ser influenciadas por los factores ya mencionados, por ello se realizó un análisis cuantitativo tanto en los extractos como luego de la microencapsulación. El Anexo B.2 y la Figura 4.a muestran que existió diferencia significativa entre los extractos analizados ($p < 0.05$). El mortiño fue la fruta con la menor cantidad de polifenoles totales (3.41 ± 0.65 mM) y más reducida que 11.99 mM mencionada por Llivisaca et al. [33]. Esta discrepancia pudo deberse a que el origen de la fruta y el método de extracción de polifenoles fueron diferentes en los estudios. Para la mora se obtuvo una concentración 4.47 ± 0.44 mM, muy por debajo de 25.93 mM reportados por Montero [34], que además explica que el origen de la mora es determinante en su composición; la altura, clima y cepa del fruto repercuten directamente en las características organolépticas y fisicoquímicas como grados brix, pH, cantidad de polifenoles y actividad antioxidante; igualmente, la matriz alimentaria de la mora es compleja debido a la gran cantidad de componentes que la conforman, lo que hace que los métodos de extracción y tiempo de almacenamiento influyan en las pruebas realizadas. En el capulí la concentración de polifenoles (6.86 ± 0.47 mM) fue distinta a 65.18 mM en la piel de la baya y 19.45 mM en la pulpa reportados por Vasco, Ruales y Kamal [35] que investigaron polifenoles con diferente método de extracción. Si bien la concentración obtenida en el

experimento fue menor a la de la literatura, el capulí fue la baya que presentó mayor cantidad de polifenoles en comparación a las otras frutas estudiadas y este patrón se mantuvo para los datos referenciales.

A diferencia de los extractos, no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) entre la mora y las otras dos frutas estudiadas (mortiño y capulí), pero si hubo diferencia significativa entre el mortiño y el capulí ($p < 0.05$) (Anexo B.2 y Figura 4.b).

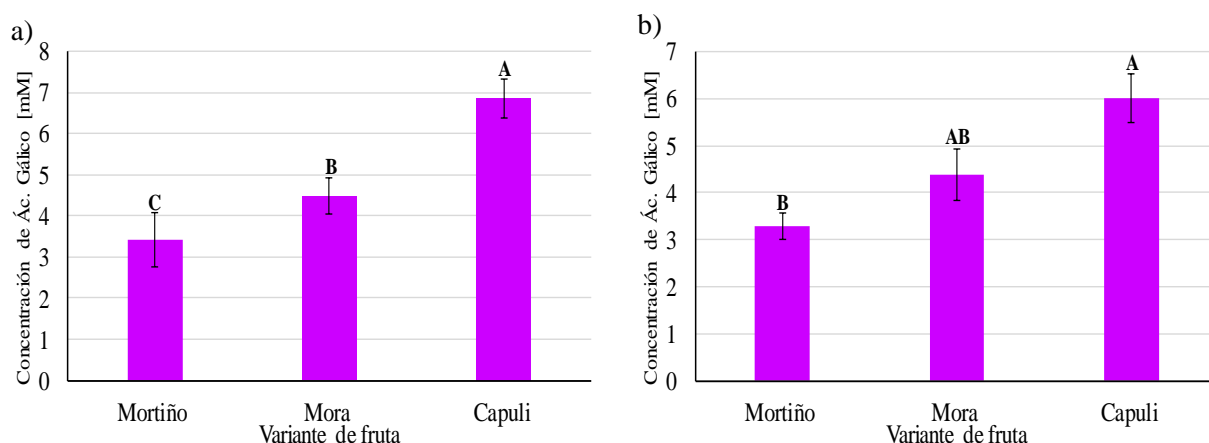


Figura 4: Concentración de polifenoles totales en los tratamientos.

a) Extractos. b) Microencapsulados.

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si ($p > 0.05$)

Al analizar las Figuras 4.a y 4.b se puede observar que la concentración de polifenoles totales antes y después de la microencapsulación es diferente, sin embargo, el cambio no es extremo como en la cantidad de antocianinas. Según Luna et al. [36] estas moléculas se caracterizan por ser estables al calor, pero varían significativamente con respecto a los cambios de pH; no obstante, existen grupos fenólicos específicos que pueden verse alterados por la condición de la temperatura como ocurre en los pigmentos naturales (antocianinas). Ríos y Gil [37] consideran que en la microencapsulación de antioxidantes mediante secado por aspersión la reducción de estos dependerá de la matriz alimentaria de la que proviene el compuesto bioactivo, en especial cuando se trata de polifenoles, debido a que las emulsiones que se utilizan se comportan de maneras diferentes bajo las condiciones extremas de operación, por lo tanto, la elección de un buen material microencapsulante será fundamental para evitar la pérdida de

polifenoles, así mismo, se ha reportado que la maltodextrina y la goma arábica permiten mayor efectividad y protección de los polifenoles en estos procedimientos.

La concentración de polifenoles determinada en la presente investigación discrepó con la reportada por otros estudios. No obstante, se debe tomar en cuenta que los métodos de extracción pueden tener diferentes pH y solventes, lo que repercute directamente en la cuantificación. Por otra parte, la estabilidad de los polifenoles a la temperatura ha sido evidenciada ya que los cambios con respecto a las concentraciones iniciales no han sido de gran magnitud, esto también pudo darse porque en el presente estudio se empleó maltodextrina como material microencapsulante en una relación 6:1 con los extractos y permitió la formación de una buena capa de protección para los polifenoles [8]; sin embargo, se puede lograr una menor disminución de polifenoles termosensibles, como las antocianinas, con combinaciones de materiales microencapsulantes, como lo demuestran Ríos y Gil [37] al utilizar una emulsión de goma arábica y maltodextrina.

La actividad antioxidante es un parámetro importante en el estudio de los frutos rojos. Existió diferencia significativa ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante de los extractos de las frutas estudiadas (Anexo B.3 y Figura 5.a). Se cuantificó 5918.12 ± 626.60 ET/ml en el extracto de mortiño, superior a 1302 ET/ml reportado por Santamaría [38] que además menciona que la actividad antioxidante depende la concentración del extracto estudiado y del grado de madurez inicial de la fruta. El extracto de mora presentó una actividad antioxidante de 2461.59 ± 448.29 ET/ml, mientras que para Rojas [39] la mora puede tener una concentración entre 560 ET/ml y 955 ET/ml; además, este parámetro se ve relacionada directamente con el solvente que se haya utilizado en la preparación de extractos y con el contenido de polifenoles totales de la fruta. La actividad antioxidante para el capulí fue de 1437.68 ± 312.83 ET/ml, similar a 1452 ET/ml encontrado por Reyes [40], y considera a esta fruta como una gran fuente de

antioxidantes comparable con la clorhexidina que generalmente se emplea como un reactivo estándar para este tipo de análisis.

En el Anexo B.3 y la Figura 5.b se muestra la actividad antioxidante para los tratamientos ya microencapsulados y a diferencia de los extractos, no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) entre la mora y el capulí, únicamente difirieron con el mortiño ($p < 0.05$). Se determinó una concentración de equivalentes de trolox de 4376.81 ± 628.21 ET/ml para el mortiño, 6453.63 ± 589.78 ET/ml para la mora y 5638.41 ± 222.65 ET/ml para el capulí.

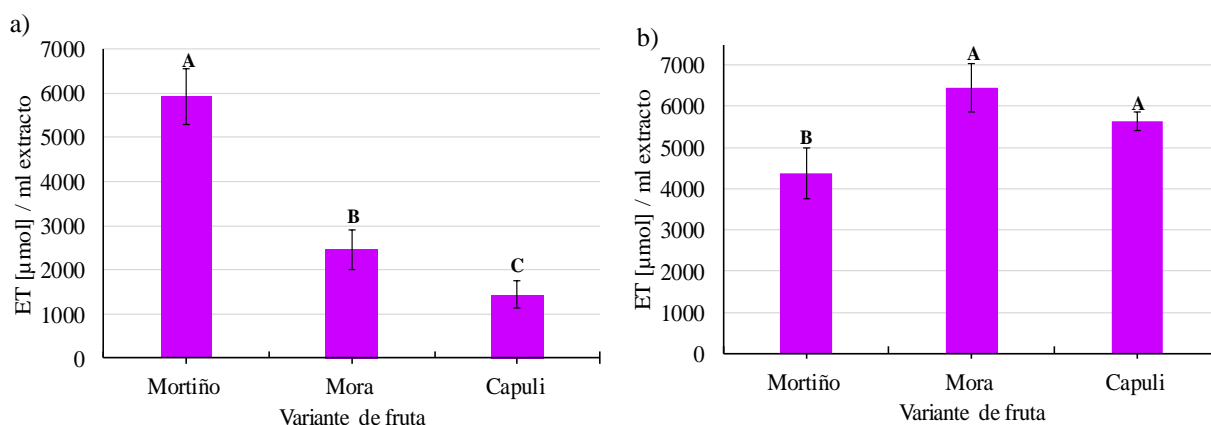


Figura 5: Actividad antioxidante en los tratamientos.

a) Extractos. b) Microencapsulados.

Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si ($p > 0.05$)

Se observó que la actividad antioxidante de los microencapsulados de mora y capulí fue superior a la presentada en los extractos (Figura 5.a y 5.b). En procesos que incluyen secado, cuando la temperatura aumenta la capacidad antioxidante también lo hace, y es común que se encuentren incrementos de al menos 41% con respecto a los valores iniciales [41] Además, está directamente relacionada con la cantidad de polifenoles que puede tener un extracto [35]. Mishshra et al., establecieron que las temperaturas óptimas para microencapsulación mediante secado por aspersión van de 125°C hasta 200°C , una vez superadas se afecta negativamente la estructura de los compuestos fenólicos causando su descomposición o síntesis en diferentes formas. Por otra parte, al aumentar la concentración de maltodextrina utilizada en el

emulsionante es posible reducir la actividad antioxidante debido a un efecto de dilución que involucra los sólidos totales e incluso el rendimiento [42]. La Figura 5 también muestra que el mortiño sufrió una reducción en su capacidad antioxidante, a diferencia de la mora y capulí, como lo explica Sánchez [32] el contenido de azúcar de un extracto puede actuar como inhibidor de la degradación de propiedades bioactivas. La tabla 1 muestra que el mortiño es la fruta que tiene menor cantidad de azúcar, lo que pudo repercutir en la protección de su actividad antioxidante.

El proceso de microencapsulación actual se llevó a cabo bajo condiciones recomendadas por la literatura [8], [10]; la temperatura de 180°C y la concentración de 20% de maltodextrina fueron determinantes en el aumento de este parámetro. La actividad antioxidante en la mora y el capulí en estos tratamientos no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) y únicamente es mayor a la presentada por el mortiño, contrariamente a lo que sucedió en los extractos donde todas las muestras eran diferentes ($p < 0.05$), lo que a su vez hace referencia a lo explicado sobre que la actividad antioxidante está ligada a la cantidad de polifenoles.

Al analizar los tres parámetros estudiados en conjunto es posible determinar la actividad antioxidante relativa relacionada tanto a la cantidad de antocianinas monoméricas como a la concentración de polifenoles totales antes y después de la microencapsulación (Figura 6 y Figura 7).

La actividad antioxidante relativa calculada sufrió cambios con respecto al antes y después del proceso de micro-encapsulación; sin embargo, se observa que en las tres frutas las relaciones entre las dos capacidades antioxidantes relativas se mantienen; es importante considerar que si el valor relativo es alto la concentración con la que la capacidad antioxidante es comparada es baja.

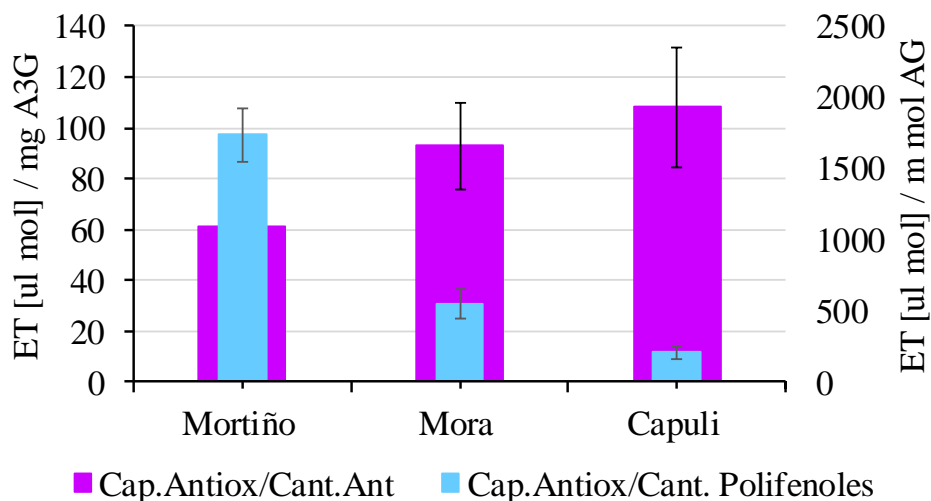


Figura 6: Capacidad antioxidante relativa en los tratamientos (extractos)

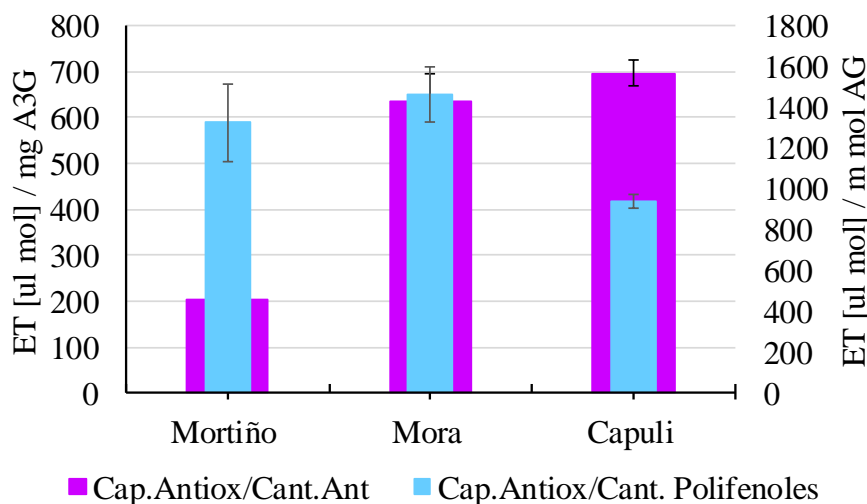


Figura 7: Capacidad antioxidante relativa en los tratamientos (microencapsulados)

La tabla del Anexo C muestra un resumen del estudio de la estabilidad de polifenoles después del proceso de microencapsulación. A pesar de que la cantidad de antocianinas monoméricas disminuyó en un 77.90% para la mora, 61.82% para el mortiño y 39.17% para el capulí después de la microencapsulación, la actividad antioxidante aumentó para la mora y el capulí (162.17 % y 292.19%), sin embargo, el mortiño si sufrió una disminución en un 26.05%. Por otro lado, la concentración de polifenoles sufrió pérdidas menores en las tres frutas (2.01% a 12.10%). Con los resultados del estudio se confirma que la actividad antioxidante podría estar ligada en mayor grado a la cantidad de polifenoles totales que a la cantidad de antocianinas

monoméricas porque estas corresponden únicamente a uno de los tipos de estructuras que conforman los polifenoles.

En un proceso de microencapsulación existen diferentes parámetros de importancia, entre los principales se encuentran la humedad del producto, el rendimiento del proceso y en el caso de extractos ricos en antocianinas, el color; la Tabla 2 muestra la caracterización de las microcápsulas.

La humedad es un parámetro de control importante en un proceso de secado que está relacionado de manera directa con la estabilidad, calidad, durabilidad y seguridad del producto; la humedad afecta la estabilidad de las microcápsulas provocando que exista degradación de los compuestos bioactivos encapsulados, también influye en sus propiedades físicas como el grado de apelmazamiento o la consistencia y en ciertas ocasiones puede crear ambientes favorables para el crecimiento de microorganismos que afectarían la inocuidad del producto; Ćujić-Nikolić [43] en su estudio sobre micro-encapsulación mediante secado por aspersión indica que los niveles óptimos de humedad son del 3.39% al 4.61% para evitar cualquier tipo de daño en el producto. En el presente estudio el contenido de humedad para las tres frutas se mantuvo dentro de este intervalo (Tabla 2) y no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) (Anexo B.4) entre los tratamientos (frutas), mostrando que la matriz alimentaria no influyó en la humedad del producto final.

En cualquier proceso realizado es fundamental obtener el porcentaje de rendimiento ya que se relaciona con la materia prima necesaria y la cantidad de producto resultante. El rendimiento en un proceso de secado por aspersión depende de muchos factores como la temperatura de entrada, el tipo de material microencapsulante, la relación de microencapsulante con extracto y la concentración de la solución de microencapsulante, al encontrar un balance entre todos estos parámetros el porcentaje de rendimiento podría mantenerse entre

63.5% y 97.3% [43]. En la Tabla 2 se observa que el rendimiento (59.79 a 60.94%) fue óptimo para este proceso, lo que podría ser causado por la concentración de maltodextrina utilizada (20%) o por la relación micro encapsulante: extracto que fue de 6:1. Para Otálora et al. [25] estas condiciones de proceso fueron las mejores para la microencapsulación debido a que la cantidad de sólidos totales hacen más fácil que las partículas encapsuladas atraviesen el equipo hasta la sección de recolección, además de que crean una pared lo suficientemente gruesa para proteger los compuestos bioactivos de interés. En el análisis de varianza (ANOVA), no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las tres muestras (Anexo B.4), por lo tanto, la matriz alimentaria no influyó tampoco en el porcentaje de rendimiento del proceso de microencapsulación.

Las antocianinas son catalogadas como colorantes naturales, por ello, es necesario un análisis de color del microencapsulado para verificar la intensidad de sus tonalidades. Según Otálora [25], un correcto proceso de microencapsulación de extractos ricos en antocianinas debe encontrarse en las coordenadas L: 30.78, a: 18.13 y b: 8.27, lo que representa una alta luminosidad con tendencias fuertes hacia el color rojo pero bajas en el color amarillo que indica una alta concentración de pigmento natural en la muestra.

Las tres frutas estudiadas presentaron mayor luminosidad (L), menor apego al amarillo (b) y menor apego al rojo (a), que los datos referentes a la literatura, a pesar de ello, se mantiene entre valores aceptables, es decir sin tendencia al color verde o al azul; demostrando que en los productos de la microencapsulación se mantiene una alta concentración de pigmento natural que está asociado con la cantidad de antocianinas presentes.

Tabla 2: Caracterización de microcápsulas

	Humedad [g/100g]	%Rendimiento	Color		
			L	a	b
Mortiño	3.98 ± 0.23	59,90 ± 9,86	50,09	14,95	1,15
Mora	3,92 ± 0,20	60,94 ± 8,62	47,89	11,95	2,01
Capulí	3,71 ± 0,20	59,79 ± 10,28	50,315	9,80	2,76

La morfología de las partículas en un proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión puede llegar a ser diversa. La medición del diámetro de partículas realizado mediante el software ImageJ mostró que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el mortiño y el capulí, pero la mora y el blanco no guardan diferencia significativa ($p > 0.05$) entre ellos ni con ninguna de las dos frutas anteriores (Anexo B.4). La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos tanto para las partículas de las frutas como para el blanco (maltodextrina 20%). Ríos y Gil [37] obtuvieron micropartículas con diámetros alrededor de 7-9 μm , además, concluyen en su estudio que el tamaño final de la partícula dependerá del proceso tecnológico desarrollado y del tipo de atomización utilizada, manteniendo un rango entre 1 y 600 μm . Los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango tolerable de diámetro propuesto para micropartículas, por lo tanto, se considera que el proceso fue exitoso en cuanto a tamaño.

Tabla 3: Tamaño de partícula de muestras microencapsuladas

Tamaño de partícula [μm]	
Mortiño	8.52 ± 1.43 ^A
Mora	7.66 ± 0.70 ^{AB}
Blanco	6.99 ± 0.08 ^{AB}
Capulí	6.28 ± 0.44 ^B

*Medias seguidas de por lo menos una misma letra no difieren entre si ($p > 0.05$)

La Figura 8 muestra como la matriz alimentaria si cambia la forma del encapsulado. En la muestra de maltodextrina (A) las partículas son poligonales, mientras que al mezclarse con

los distintos extractos forman cápsulas esféricas de diferentes tamaños. Ríos y Gil mencionan que con la técnica de secado por aspersión se forman microcápsulas de forma simple, es decir sin múltiples paredes o núcleos, generalmente se presentan estructuras uniformes y lisas, de forma esférica y pueden presentar grietas; también es posible que existan micropartículas irregulares debido a malas condiciones de operación en el secador, composición del material de recubrimiento o relación núcleo: revestimiento [37]. Manzanares et al., explica que la cantidad de sólidos solubles afectan a la morfología de las partículas obtenidas mediante microencapsulación, por lo que, el índice de madurez de las frutas junto con la concentración del extracto y de la solución microencapsulante son de gran importancia en estos experimentos; también, otro factor con influencia es el pH de la solución de alimentación, los pH menores a 5 permiten obtener esferas uniformes en el producto final [44]. Los extractos utilizados en el estudio mantuvieron pH ácido (2.30 ± 0.20) por lo que, la morfología uniforme y lisa de las microcápsulas que contenían esta sustancia en su emulsión pudo relacionarse a este factor, mientras que el pH de la solución de maltodextrina se encontraba entre 4 y 5.

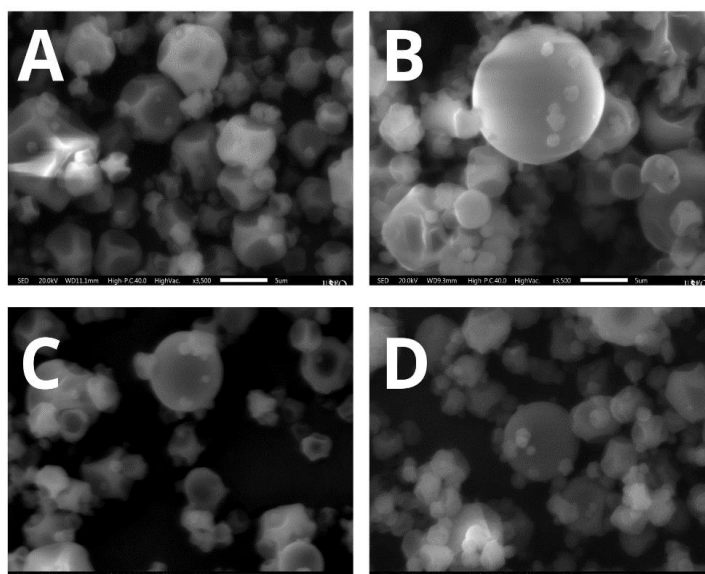


Figura 8: Morfología de micro partículas vista desde un microscopio electrónico de barrido. A: Muestra de maltodextrina al 20%. B: Micro encapsulado de mortiño. C: Micro encapsulado de mora. D: Micro encapsulado de capulí.

4. Observaciones y Recomendaciones

Las pruebas para cuantificación de antocianinas, polifenoles y actividad antioxidante se realizaron mediante métodos colorimétricos, por lo tanto, es importante tener en cuenta los tiempos exactos de reacción y medición. También las moléculas estudiadas son sensibles a factores ambientales como la luz y temperatura, entonces, las pruebas y el proceso de micro encapsulación deben realizarse con extractos frescos.

Los productos de la micro encapsulación deben ser almacenados en envases herméticos y que no permitan un paso de luz directa para evitar cualquier tipo de degradación o adquisición de humedad.

5. Conclusiones

El extracto de mortiño tuvo la mayor concentración de antocianinas monoméricas tanto antes como después de la microencapsulación ($p < 0.05$). En todas las frutas fue evidente la reducción del contenido debido a que son uno de los grupos de polifenoles más termosensibles; si bien la microencapsulación debido a las altas temperaturas redujo la cantidad de estos compuestos, ayudará a mantener la concentración final ya que actúa como barrera a otros factores ambientales como la humedad y la luz.

En el contenido de polifenoles, el extracto de capulí tuvo la mayor concentración, sin embargo, después de la microencapsulación solo fue superior al mortiño ($p < 0.05$). Por otro lado, el mortiño fue la fruta con mayor potencial antioxidante antes de la microencapsulación ($p < 0.05$), pero después del proceso, la mora y el capulí tuvieron igual capacidad antioxidante y superior al mortiño; estas alteraciones en los dos parámetros pudieron ser causadas por la diferencia de las matrices alimenticias y por el tipo de polifenoles que contiene cada fruta. A pesar de existir un cambio, los porcentajes de reducción de concentración de polifenoles fueron muy bajos en comparación a los porcentajes de reducción de antocianinas monoméricas, mientras que la actividad antioxidante aumentó en dos de las tres frutas.

En base a todos los resultados obtenidos en este estudio se puede afirmar que el objetivo principal se cumplió en el caso de la mora y el capulí, ya que su reducción de polifenoles fue mínima y su actividad antioxidante se incrementó, por su parte, si bien el mortiño muestra presencia de estos parámetros en su microencapsulado los valores son mucho menores a los obtenidos con las otras frutas.

La matriz alimentaria no influyó en la humedad, rendimiento y color de las micropartículas, no obstante, si generó un cambio en la morfología de las partículas en comparación con el microencapsulado de la solución de maltodextrina utilizada.

6. Referencias Bibliográficas

- [1] R. E. Wrolstad, “Anthocyanin Pigments-Bioactivity and Coloring Properties,” *J Food Sci*, vol. 69, no. 5, 2006, doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10709.x.
- [2] H. E. Khoo, A. Azlan, S. T. Tang, and S. M. Lim, “Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits,” *Food and Nutrition Research*, vol. 61. 2017. doi: 10.1080/16546628.2017.1361779.
- [3] F. Shahidi and P. Ambigaipalan, “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review,” *Journal of Functional Foods*, vol. 18. 2015. doi: 10.1016/j.jff.2015.06.018.
- [4] G. A. Garzón, “Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión,” *Acta Biologica Colombiana*, vol. 13, no. 3. 2010.
- [5] R. Dubey, T. C. Shami, and K. U. Bhasker Rao, “Microencapsulation technology and applications,” *Def Sci J*, vol. 59, no. 1, 2009.
- [6] M. Calderón-Oliver and E. Ponce-Alquicira, “The Role of Microencapsulation in Food Application,” *Molecules*, vol. 27, no. 5. 2022. doi: 10.3390/molecules27051499.
- [7] S. C. Lourenço, M. Moldão-Martins, and V. D. Alves, “Microencapsulation of pineapple peel extract by spray drying using maltodextrin, inulin, and Arabic gum as wall matrices,” *Foods*, vol. 9, no. 6, 2020, doi: 10.3390/FOODS9060718.
- [8] Z. Xiao, J. Xia, Q. Zhao, Y. Niu, and D. Zhao, “Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 298. 2022. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.120113.

- [9] A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, and R. Saurel, “Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview,” *Food Research International*, vol. 40, no. 9. 2007. doi: 10.1016/j.foodres.2007.07.004.
- [10] W. Lu *et al.*, “Choosing the appropriate wall materials for spray-drying microencapsulation of natural bioactive ingredients: Taking phenolic compounds as examples,” *Powder Technol*, vol. 394, 2021, doi: 10.1016/j.powtec.2021.08.082.
- [11] R. Herrera Jr. and M. E. Vázquez Barrios, “Efecto de la Deshidratación sobre el perfil Fitoquímico de Blueberries (*Vaccinium corymbosum*),” *Quimiofilia*, vol. 1, no. 1, pp. 16–19, Aug. 2022, doi: 10.56604/qfla2022111619.
- [12] S. Velásquez, “Estudio de tecnologías de manejo postcosecha de lechugas (*Lactuca sativa*) de hoja producidas por cultivo orgánico,” Escuela Politécnica Nacional , Quito , 2007.
- [13] F. H. Chalé, D. B. Ancona, and M. R. S. Campos, “Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos,” *Nutricion Hospitalaria*, vol. 29, no. 1. 2014. doi: 10.3305/nh.2014.29.1.6990.
- [14] C. M. Buitrago Guacaneme, M. C. Rincón Soledad, H. E. Balaguera López, and G. A. Ligarreto Moreno, “Tipificación de Diferentes Estados de Madurez del Fruto de Agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*),” *Rev Fac Nac Agron Medellin*, vol. 68, no. 1, 2015, doi: 10.15446/rfnam.v68n1.47840.
- [15] R. D. Saltos Espín *et al.*, “RENDIMIENTO Y ATRIBUTOS DE CALIDAD DE MORA (*Rubus glaucus Benth*) DE CUATRO ZONAS PRODUCTORAS DE BOLÍVAR,” *Revista de Investigación Talentos*, vol. 7, no. 2, pp. 33–45, Dec. 2020, doi: 10.33789/talentos.7.2.133.

- [16] Servicio Ecuatoriano de Normalización, “Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico.” Ecuador, 1986.
- [17] Servicio Ecuatoriano de Normalización, “Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable método potenciométrico de referencia.” Ecuador, 1986.
- [18] L. Cajiao and M. Luna, “Microencapsulación de Antocianinas de Mortiño (*Vaccinium floribundum*) utilizando una combinación de Alginato y Pectina,” *Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos*, 2019.
- [19] Association of Official Analytical Chemists (AOAC), “AOAC Official Method 2005.02 Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines,” 2006.
- [20] S. De Pascual-Teresa and M. T. Sanchez-Ballesta, “Anthocyanins: From plant to health,” *Phytochemistry Reviews*, vol. 7, no. 2. 2008. doi: 10.1007/s11101-007-9074-0.
- [21] M. Musci and S. Yao, “Optimization and validation of Folin–Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea,” *Int J Food Sci Nutr*, vol. 68, no. 8, 2017, doi: 10.1080/09637486.2017.1311844.
- [22] A. Benítez-Estrada, J. Villanueva-Sánchez, G. González-Rosendo, V. E. Alcántar-Rodríguez, R. Puga-Díaz, and A. G. Quintero-Gutiérrez, “Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP),” *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 23, 2020, doi: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244.

- [23] C. I. Piñón-Balderrama, C. Leyva-Porras, Y. Terán-Figueroa, V. Espinosa-Solís, C. Álvarez-Salas, and M. Z. Saavedra-Leos, “Encapsulation of active ingredients in food industry by spray-drying and nano spray-drying technologies,” *Processes*, vol. 8, no. 8. 2020. doi: 10.3390/PR8080889.
- [24] M. C. Otálora, A. Wilches-Torres, and J. A. Gómez Castaño, “Spray-Drying Microencapsulation of Andean Blueberry (*Vaccinium meridionale* Sw.) Anthocyanins Using Prickly Pear (*Opuntia ficus indica* L.) Peel Mucilage or Gum Arabic: A Comparative Study,” *Foods*, vol. 12, no. 9, 2023, doi: 10.3390/foods12091811.
- [25] G. Miño and A. Leslie, “Microencapsulación de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) mediante secado por aspersión para uso como saborizante,” 2022.
- [26] M. Farinango, “Estudio de la fisiología postcosecha de la mora de castilla (*rubus Glancus Benth*) y de mora variedad brazos (*Rubus sp.*),” Escuela Politécnica Nacional , Quito , 2010.
- [27] I. Castillo, “Evaluación in vitro de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de extractos del fruto de capulín (*Prunus serótina* subsp. capulí),” Maestro en Ciencias Alimentarias , Universidad Veracruzana, Veracruz, 2009.
- [28] M. Arteaga Dalgo, M. J. Andrade Cuvi, and C. Moreno Guerrero, “Relación del desarrollo del color con el contenido de antocianinas y clorofila en diferentes grados de madurez de mortiño (*Vaccinium floribundum*),” *Enfoque UTE*, vol. 5, no. 2, pp. 14–28, Jun. 2014, doi: 10.29019/enfoqueute.v5n2.37.
- [29] N. Y. Rojas-aguilar and L. J. Correa-higuera, “Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*),” *Ciencia en desarrollo*, vol. 2, no. 2, pp. 115–130, 2016.

- [30] S. G. Ruiz Reyes, “Características farmacognósticas y cuantificación espectrofotométrica de antocianinas totales del fruto de *Prunus serotina* subsp. *capuli* (Cav.) McVaugh (Rosaceae) ‘capulí,’” *Arnaldoa*, vol. 25, no. 3, 2018, doi: 10.22497/arnaldoa.253.25309.
- [31] I. Sánchez, ““Efecto de la temperatura y el tiempo en la cinética de degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.),” Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga , Ayacucho , 2018.
- [32] S. Llivisaca *et al.*, “Chemical, antimicrobial, and molecular characterization of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) fruits and leaves,” *Food Sci Nutr*, vol. 6, no. 4, pp. 934–942, Jun. 2018, doi: 10.1002/fsn3.638.
- [33] M. L. Montero, C. Rojas-Garbanzo, J. Usaga, and A. M. Pérez, “Composición nutricional, contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante hidrofílica de frutas costarricenses seleccionadas,” *Agronomía Mesoamericana*, 2022, doi: 10.15517/am.v33i2.46175.
- [34] C. Vasco, J. Ruales, and A. Kamal-Eldin, “Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador,” *Food Chem*, vol. 111, no. 4, pp. 816–823, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.04.054.
- [35] C. Luna, J. Barreto, and Z. Marín, “Desarrollo de un modelo matemático que permita predecir el cambio del contenido de polifenoles en una matriz alimentaria sometida a tratamientos térmicos con diferentes condiciones,” *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 24, no. 39, pp. 843–850, Dec. 2016.

- [36] S. Rios-Aguirre and M. A. Gil-Garzón, “Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión,” *TecnoLógicas*, vol. 24, no. 51, p. e1836, May 2021, doi: 10.22430/22565337.1836.
- [37] P. Coba Santamaría, D. Coronel, K. Verdugo, M. F. Paredes, E. Yugsi, and L. Huachi, “Estudio etnobotánico del mortiño (*vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional,” *La Granja*, vol. 16, no. 2, p. 5, Dec. 2012, doi: 10.17163/lgr.n16.2012.01.
- [38] J. P. ROJAS-LLANES, J. R. MARTÍNEZ, and E. E. STASHENKO, “Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones,” *Vitae*, vol. 21, no. 3, 2015, doi: 10.17533/udea.vitae.18852.
- [39] I. Y. Reyes Pillajo, “Efecto antibacteriano y antioxidante de frutos rojos ecuatorianos sobre *Streptococcus mutans*: estudio in vitro,” *Odontología Vital*, vol. 2, no. 31, pp. 23–30, Oct. 2019, doi: 10.59334/rov.v2i31.323.
- [40] F. Esparza, R. Miranda, and S. Guzmán, “Efecto de la temperatura sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en el residuo de la producción de jugo de mandarina (*Citrus reticulata* Satsuma),” *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 1, no. 1, 2016.
- [41] P. Mishra, S. Mishra, and C. L. Mahanta, “Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder,” *Food and Bioproducts Processing*, vol. 92, no. 3, 2014, doi: 10.1016/j.fbp.2013.08.003.

- [42] N. Čujić-Nikolić *et al.*, “Application of gum Arabic in the production of spray-dried chokeberry polyphenols, microparticles characterisation and in vitro digestion method,” *Lekovite sirovine*, no. 38, 2018, doi: 10.5937/leksi1838009c.
- [43] L. E. Manzanarez-Tenorio *et al.*, “Microencapsulación de extractos de higo (*Ficus carica*) por coacervación compleja y evaluación de su capacidad antioxidante//Microencapsulation of fig (*Ficus carica*) extracts by complex coacervation and evaluation of its antioxidant capacity,” *Biotecnia*, vol. 22, no. 2, 2020, doi: 10.18633/biotecnia.v22i2.1247.

7. Anexos

Anexo A. Protocolos de laboratorio para pruebas cuantitativas

Anexo A.1. Protocolo para cuantificación de antocianinas

- **Método:** pH diferencial
- **Materiales y reactivos**

Materiales y equipos	Reactivos
Balón de aforo	Acetato de sodio
Barilla de agitación	Cloruro de potasio
Vortex	Ácido clorhídrico
Tubos de ensayo con tapa de rosca	Agua destilada
Gradilla	Extractos reducidos
Pipeta graduada	
Micro pipeta	
Espectrofotómetro	
Celdas de cuarzo	

- **Metodología**
 1. Preparar el buffer de acetato de sodio 0.4 M con pH 4.5 realizando los cálculos respectivos, para ello utilizar el balón de aforo dependiendo al volumen que se requiera preparar.
 2. Preparar el buffer de cloruro de potasio 0.025 M con pH 1 realizando los cálculos respectivos, para ello utilizar el balón de aforo dependiendo al volumen que se requiera preparar.

Los pasos detallados a continuación son referentes para una muestra medible de 10 ml.

3. Colocar los tubos de ensayo en la gradilla, divididos en dos grupos, A y B, dentro de esta división identificar cada tubo según la fruta y número de muestra a analizar.
Ejemplo para la mora grupo A: AMo1.1, AMo1.2, AMo1.3, AMo1.4, AMo2.1, AMo2.2, AMo2.3, AMo2.4, AMo3.1, AMo3.2, AMo3.3, AMo3.4

Ejemplo para la mora grupo B: BMo1.1, BMo1.2, BMo1.3, BMo1.4, BMo2.1, BMo2.2, BMo2.3, BMo2.4, BMo3.1, BMo3.2, BMo3.3, BMo3.4

De la misma manera etiquetar para las muestras para mortiño y capulí.

4. Tomar todos los tubos de ensayo del grupo A para las diferentes frutas y colocar en estos 9.5 ml de buffer de acetato de sodio más 0.5 ml de extracto reducido para cada muestra de fruta.
5. Tomar todos los tubos de ensayo del grupo B para las diferentes frutas y colocar en estos 9.5 ml de buffer de cloruro de potasio más 0.5 ml de extracto reducido para cada muestra de fruta.
6. Agitar cada uno de los tubos con la mezcla en el vortex por aproximadamente 5 segundos.
7. Medir en el espectrofotómetro con celdas de cuarzo a manera de barrido entre 500 y 750 nm cada muestra tanto el grupo A como el grupo B.
8. Seleccionar las longitudes de 520 nm y 700 nm para tomar nota de las absorbancias correspondientes a estos puntos para las diferentes muestras de cada grupo.
9. Una vez obtenidas las absorbancias proceder a calcular la absorbancia corregida para cada muestra con la ecuación (2)
10. Finalmente calcular la concentración de pigmentos monoméricos con la ecuación (3), que da como resultado los mg de cianidina-3-glucósido / 100 g de fruta.

Anexo A.2. Protocolo para determinación de la concentración de polifenoles totales.

- **Método:** Folin-Ciocalteu
- **Materiales y reactivos**

Materiales y equipos	Reactivos
Balón de aforo 10 ml	Reactivo de Folin- Ciocalteu
Micro pipeta	Carbonato de sodio
Vortex	Ácido gálico
Tubos Eppendorf	Agua destilada

Gradilla	Extractos reducidos
Espectrofotómetro	
Celdas de cuarzo	

- **Metodología**

1. Preparar la solución de reactivo Folin: Se tomó 1 ml de solución madre (0.2 N) y se aforó con agua destilada hasta un volumen final de 10 ml. Esta solución fue preparada en el momento del análisis y sin exposición a la luz.
2. Preparar la solución de carbonato de sodio: Se pesaron 3.75 g de carbonato de sodio, se disolvió en un poco de agua destilada y se aforó a 50 ml.
3. Preparar la solución madre de ácido gálico: Se disolvieron 0.1021 g de ácido gálico en 1 ml de metanol y se aforó a 100 ml con agua destilada.
4. Preparar los estándares utilizando las soluciones explicadas en la Tabla 4. Para los puntos de la curva de calibración se utilizan los estándares del 1 al 10, además del blanco.
5. Diluir cada extracto de fruta con agua destilada (1:20) debido al rango tolerable de absorbancia que se estableció (0.0 y 0.82).
6. Mezclar 100 µl de extracto diluido anteriormente con 500 µl de solución de Folin, esperar 5 minutos y agregar 400 µl de solución de carbonato de sodio y dejar reposar 2 horas.
7. Medir todas las muestras a 760 nm.
8. Con la curva de calibración calcular la concentración de polifenoles totales correspondiente

Tabla 4: Estándares utilizados en la curva de calibración para cuantificación de polifenoles totales

Nº Estándar	Concentración de ácido gálico	Preparación
STD 1	3 mM	500 µl SMA + 500 µl agua destilada
STD 2	2 mM	300 µl SMA + 700 µl agua destilada

STD 3	1.5 mM	500 µl STD 1 + 500 µl agua destilada
STD 4	1 mM	500 µl STD 2 + 500 µl agua destilada
STD 5	0.85 mM	283 µl STD 2 + 717 µl agua destilada
STD 6	0.75 mM	500 µl STD 6 + 500 µl agua destilada
STD 7	0.60 mM	200 µl STD 1 + 800 µl agua destilada
STD 8	0.50 mM	500 µl STD 4 + 500 µl agua destilada
STD 9	0.375 mM	500 µl STD 6 + 500 µl agua destilada
STD 10	0.250 mM	500 µl STD 8 + 500 µl agua destilada
Blanco	0 mM	Agua destilada

Anexo A.3. Protocolo para medición de actividad antioxidante.

- **Método:** FRAP
- **Materiales y reactivos**

Materiales y equipos	Reactivos
Balón de aforo	Acetato de sodio trihidratado
Barilla de agitación	TPTZ
Vortex	Cloruro férrico hexahidratado
Micro pipeta	FRAP
Espectrofotómetro	Extractos reducidos
Celdas de plástico	Agua destilada
Viales de 1 ml	
Gradilla	
Balanza analítica	

- **Metodología**
 1. Preparar una solución 300 mM de acetato de sodio. Para ello disolver 3.1 gramos de acetato de sodio tri hidratado en 950 ml de agua milli-Q. Añadir 16 ml de ácido acético para llegar a un pH de 3.6. Aforar a 1000 ml

2. Preparar una solución TPTZ 10 mM en 40 mM HCl. Para ello colocar 340 μ l de HCl al 37% a 100 ml de agua destilada; disolver 0.312 gramos de TPTZ en los 100 ml de agua acidificada y someter a agitación. Guardar esta solución a oscuras.
3. Preparar una solución 20 mM de cloruro férrico. Para ello disolver 0.27 gramos de cloruro férrico hexa hidratado en un volumen final de 50 ml con agua destilada. No usar objetos metálicos para pesar ni disolver.
4. Preparar una solución FRAP 10:1:1 correspondiente a 100 ml de acetato, 10 ml de TPTZ y 10 ml de cloruro férrico y dejarla reposar por 5 minutos antes de mezclarla con las muestras.
5. Preparar los estándares utilizando las soluciones explicadas en la Tabla 5. Para los puntos de la curva de calibración se utilizan los estándares del 2 al 9, además del blanco.
6. Preparar diluciones de cada una de las muestras colocando 250 μ l de extracto reducido en un volumen final de 25ml mezclado con agua destilada.
7. Para la medición de muestras mezclar 900 μ l de FRAP con 100 μ l de muestra diluida en un vial de 1 ml. En el caso de la preparación de la solución control colocar 900 μ l de FRAP con 100 μ l de agua destilada. Agitar la solución con ayuda de un vortex.
8. Dejar reposar las muestras agitadas por 15 minutos.
9. Medir las muestras en celdas de plástico a 539 nm utilizando un espectrofotómetro.
10. Con la curva de calibración calcular la actividad antioxidante correspondiente.

Tabla 5: Estándares utilizados en la curva de calibración para la determinación de actividad antioxidante

N° Estándar	Concentración de trolox	Preparación
STD 1	5000 μM	0.315 g trolox en 25 ml de etanol absoluto
STD 2	500 μM	100 μl STD 1 + 900 μl agua destilada
STD 3	400 μM	80 μl STD 1 + 920 μl agua destilada
STD 4	250 μM	500 μl STD 2 + 500 μl agua destilada
STD 5	200 μM	500 μl STD 3 + 500 μl agua destilada
STD 6	100 μM	500 μl STD 5 + 500 μl agua destilada
STD 7	75 μM	300 μl STD 6 + 100 μl agua destilada
STD 8	50 μM	200 μl STD 4 + 800 μl agua destilada
STD 9	25 μM	500 μl STD 8 + 00 μl μl agua destilada

Anexo B. Tablas de Análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey para las diferentes pruebas realizadas.

Anexo B.1. Análisis estadístico de la concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos

Anexo B.1.1. Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos (extractos).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	16098.9	8049.44	492.26	0.000
Error	9	147.2	16.35		
Total	11	16246.0			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.1.2. Concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos (extractos)

Fruta	N	Media	Agrupación
Mortiño	4	96.7657	A
Mora	4	26.5345	B
Capulí	4	13.2997	C

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

Anexo B.1.3. Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos (microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	3	424.71	141.571	85.09	0.000
Error	8	13.31	1.664		
Total	11	438.02			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.1.4. Concentración de antocianinas monoméricas en los tratamientos

(microencapsulados)

Fruta	N	Media	Agrupación
Mortiño	4	21.3877	A
Mora	4	9.6295	B
Capulí	1	9.0930	B
Capulí	3	7.7527	B

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

Anexo B.2. Análisis estadístico de la concentración de polifenoles totales en los tratamientos.

Anexo B.2.1. Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de polifenoles totales en los tratamientos (extractos).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	24,855	12,4277	44,43	0,000
Error	9	2,518	0,2797		
Total	11	27,373			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.2.2. Concentración de polifenoles totales en los tratamientos (extractos)

Fruta	N	Media	Agrupación
Capulí	4	6,857	A
Mora	4	4,470	B
Mortiño	4	3,418	C

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

Anexo B.2.3. Análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de polifenoles totales en los tratamientos (microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	14,820	7,4100	9,50	0,006
Error	9	7,023	0,7803		
Total	11	21,843			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.2.4. Concentración de polifenoles totales en los tratamientos (microencapsulados)

Fruta	N	Media	Agrupación	
Capulí	4	6,025	A	
Mora	4	4,375	A	B
Mortiño	4	3,325	B	

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

Anexo B.3. Análisis estadístico de la actividad antioxidante en los tratamientos.

Anexo B.3.1. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante en los tratamientos (extractos).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	44093620	22046810	95.65	0.000
Error	9	2074353	230484		
Total	11	46167973			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.3.2. Actividad antioxidante en los tratamientos (extractos)

Fruta	N	Media	Agrupación
Mortiño	4	5918	A
Mora	4	2462	B
Capulí	4	1438	C

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

Anexo B.3.3. Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante en los tratamientos (microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	8760312	4380156	16.60	0.001
Error	9	2375491	263943		
Total	11	11135803			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.3.4. Actividad antioxidante en los tratamientos (microencapsulados)

Fruta	N	Media	Agrupación
Mora	4	645.4	A
Capulí	4	564.0	A
Mortiño	4	437.7	B

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

Anexo B.4. Análisis estadístico de la caracterización física de las partículas

Anexo B.4.1. Análisis de varianza (ANOVA) de la humedad en los tratamientos

(microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	0.3059	0.15293	3.25	0.087
Error	9	0.4234	0.04705		
Total	11	0.7293			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.4.2. Análisis de varianza (ANOVA) del rendimiento en los tratamientos

(microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fruta	2	3.199	1.599	0.02	0.983
Error	9	831.480	92.387		
Total	11	834.678			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.4.3. Análisis de varianza (ANOVA) del diámetro de las partículas en los

tratamientos (microencapsulados).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	3	10.948	3.6493	5.35	0.014
Error	12	8.192	0.6827		
Total	15	19.140			

*Significativo con $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula

Anexo B.4.4. Diámetro de las partículas en los tratamientos (microencapsulados)

Muestra	N	Media	Agrupación	
Mortiño	4	8.523	A	
Mora	4	7.662	A	B
Blanco	4	6.993	A	B
Capulí	4	6.284	B	

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

Anexo C. Resumen de los datos obtenidos para las pruebas cuantitativas realizadas.

	Antocianinas monoméricas [mg/100g fruta]	Polifenoles totales [mM]	Actividad antioxidante [μl trolox]
Mortíño (extracto)	96,77 ± 5,91	3,42 ± 0,65	5918,12 ± 626,59
Mora (extracto)	26,53 ± 3,31	4,47 ± 0,44	2461,59 ± 448,29
Capulí (extracto)	13,30 ± 1,80	6,86 ± 0,47	1437,68 ± 312,83
Mortíño (micro encapsulado)	21,39 ± 1,16	3,33 ± 0,38	4376,18 ± 628,21
Mora (micro encapsulado)	10,13 ± 1,03	4,38 ± 0,43	6453,62 ± 589,78
Capulí (micro encapsulado)	8,09 ± 0,96	6,03 ± 0,51	5638,41 ± 222,65