



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



---

Microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*).

---

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

**Autor:** Jessica Nataly Figueroa Haro

**Tutor:** PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador.

Enero - 2020

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

PhD. Orestes Darío López Hernández

### **CERTIFICA:**

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

Ambato, 13 de Noviembre del 2019



---

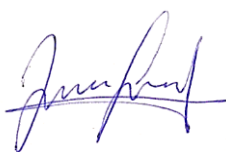
PhD. Orestes Darío López Hernández

C.I. 175478486-4

**TUTOR**

## AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jessica Nataly Figueroa Haro, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



---

Jessica Nataly Figueroa Haro

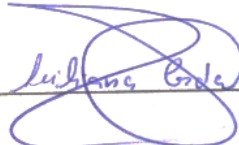
C.I. 180435718-2


AUTORA

## APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

  
\_\_\_\_\_  
Presidente del tribunal.

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Cecilia Mercedes Carpio.

C.I. 170462765-0

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Fernando Cayetano Álvarez Calvache

C.I. 180104502-0

Ambato, 02 de Enero de 2020

## **DERECHOS DE AUTOR**

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

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor



---

Jessica Nataly Figueroa Haro

C.I. 180435718-2

**AUTORA**

## *Dedicatoria*

*“La clave de la felicidad permanente es dejar  
de buscarla y saber que ya la tienes”*

Deepack Chopra

A mi madre, Paty, quien ha estado a mi lado en cada etapa de mi vida, guiándome y amándome incondicionalmente, dejando muchas cosas a un lado con el fin de verme feliz. A mi padre Isa, por el apoyo.

A mis hermanos, Danny y Jhady, por la gran compañía, dicen que soy su ejemplo, en realidad ustedes lo son.

A mis abuelitos Marthita y Angelito, por todo el apoyo, son un verdadero ejemplo de vida.

Los amo mucho.

## *Agradecimiento*

A Dios por haberme dado esta vida, llena de momentos y personas maravillosas.

A mis padres, Paty e Isa, por el apoyo brindado en cada paso que he dado.

A mis hermanos, Danny y Jhady; Cio, Tos, Gaby, Xiomí (como si lo fueran) gracias por la confianza y la alegría que me proporcionan día a día.

A mis abuelitos y a Mary, quienes han estado pendientes de mí desde que tengo memoria

A mis amigos y compañeros de este camino; Santy, Vero, Alexita, Ame y Pame, quienes han aliviado todos los momentos de tensión vividos dentro de las aulas, no sé qué habría sido de mí, sin sus ocurrencias. Jannys y Jonathan a ustedes por haberme dado el empujón que necesitaba para tomar mejores decisiones.

Finalmente agradezco de todo corazón al PhD. Orestes López, un gran tutor, quien me ha brindado mucho apoyo y conocimiento, durante la elaboración del proyecto de investigación, de igual manera al PhD. Jorge Briceño, a la MsC. Cecilia Carpio y al MsC. Fernando Álvarez, por sus constantes consejos y ser un gran apoyo antes y durante el proceso de titulación.

GRACIAS.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	3
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	4
DERECHOS DE AUTOR .....	5
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE TABLAS .....	10
ÍNDICE DE ECUACIONES .....	10
ÍNDICE DE ANEXOS.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	13
CAPITULO I.....	14
EL PROBLEMA .....	14
1.1. Tema de investigación.....	14
1.2. Justificación.....	14
1.3. Objetivos .....	15
<b>1.3.1. Objetivo General</b> .....	15
<b>1.3.2. Objetivos específicos</b> .....	15
CAPITULO II .....	17
MARCO TEÓRICO.....	17
2.1. Antecedentes Investigativos .....	17
<b>2.1.1. Características de la pitahaya roja</b> .....	17
<b>2.1.2. Flavonoides (Antocianinas)</b> .....	19
<b>2.1.3. Microencapsulación (microesferas)</b> .....	20
<b>2.1.4. Acción antioxidante</b> .....	21
2.2. Hipótesis.....	22
<b>2.2.1. Hipótesis nula</b> .....	22
<b>2.2.2. Hipótesis alternativa</b> .....	22
2.3. Señalamiento de las variables de la hipótesis.....	22
<b>2.3.1. Variables dependientes</b> .....	22
<b>2.3.2. Variables independientes</b> .....	22
CAPITULO III.....	23
METODOLOGÍA .....	23



3.1.	Materiales, equipos y reactivos.....	23
<b>3.1.1.</b>	<b>Materiales.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1.2.</b>	<b>Equipos.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1.3.</b>	<b>Reactivos .....</b>	<b>24</b>
3.2.	Métodos .....	24
<b>3.2.1.</b>	<b>Recolección del material vegetal.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.2.</b>	<b>Caracterización del material vegetal.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2.3.</b>	<b>Preparación del material vegetal.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2.4.</b>	<b>Obtención de extractos líquidos – extracción de antocianinas.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2.5.</b>	<b>Determinación de sólidos totales.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2.6.</b>	<b>Cuantificación de antocianinas por espectrofotometría.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2.7.</b>	<b>Diseño experimental para optimizar las variables de extracción ..</b>	<b>28</b>
<b>3.2.8.</b>	<b>Microencapsulación .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.9.</b>	<b>Eficiencia de la microencapsulación.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.10.</b>	<b>Evaluación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.11.</b>	<b>Evaluación de la actividad antioxidante <i>in vivo</i> .....</b>	<b>29</b>
CAPITULO IV.....		31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		31
4.1.	Análisis y Discusión de resultados.....	31
<b>4.1.1.</b>	<b>Caracterización del material vegetal.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1.2.</b>	<b>Diseño Experimental.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1.3.</b>	<b>Eficiencia de microencapsulación de las antocianinas.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1.4.</b>	<b>Actividad antioxidante <i>in vitro</i> del microencapsulado de la cáscara de pitahaya roja .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.5.</b>	<b>Actividad antioxidante <i>in vivo</i> de microencapsulado de la cáscara de pitahaya roja .....</b>	<b>36</b>
4.2.	Verificación de la hipótesis .....	39
CAPITULO V.....		40
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		40
5.1.	Conclusiones .....	40
5.2.	Recomendaciones .....	41
BIBLIOGRAFÍA .....		42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Hylocereus undatus</i> .....	17
Figura 2. Pitahaya roja.....	18
Figura 3. Diagrama de Pareto para antocianinas extraídas a partir de pitahaya roja.....	33
Figura 4. Superficie de respuesta estimada en la extracción de antocianinas.....	33
Figura 5. Actividad antioxidante de microencapsulados (25mg/ml) in vivo en <i>S. cerevisiae</i> .....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de la cáscara de pitahaya.....	31
Tabla 2. Análisis de varianza para antocianinas en la cáscara de la pitahaya (mg.l <sup>-1</sup> ).....	32
Tabla 3. Eficiencia de la microencapsulación con maltodextrina.....	34
Tabla 4. Eficiencia de la microencapsulación con goma arábiga.....	35

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación de la acidez titulable.....	25
Ecuación 2. Determinación de la densidad.....	26
Ecuación 3. Determinación de sólidos totales.....	27
Ecuación 4. Determinación de la cantidad de antocianinas.....	27
Ecuación 5. Determinación del diferencial de absorbancias.....	28
Ecuación 6. Eficiencia de la microencapsulación.....	29

Ecuación 7. Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH.....	29
Ecuación 8. Determinación de la razón de crecimiento.....	30
Ecuación 9. Ecuación del modelo ajustado.....	32

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Material vegetal seco.....	48
Anexo 2. Valores medidos para la extracción.....	48
Anexo 3. Absorbancias medidas a distintas longitudes de onda.....	49
Anexo 4. Diferencia de absorbancias y cálculo de concentración de antocianinas....	49
Anexo 5. Curva de calibración del Trolox.....	50
Anexo 6. Datos de crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> frente a estrés oxidativo.....	50

## RESUMEN

En este trabajo de investigación, se realizó la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*), con el fin de preservar la actividad antioxidante inicial de este flavonoide se evaluó la microencapsulación del extracto con diferentes tipos de polímeros y se verificó la actividad antioxidante de dicho flavonoide, realizando pruebas *in vitro* e *in vivo*. Los polímeros utilizados en la formación de las microesferas fueron maltodextrina y goma arábiga; con los que se obtuvo valores de eficiencia de microencapsulación de 77,35 % y 94,23 % respectivamente. La evaluación de actividad antioxidante *in vitro* se realizó por el método DPPH, con el cual se determinó que el microencapsulado de maltodextrina presentó un porcentaje de inhibición de radicales libres de 58,60 % es decir 405,01  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  equivalentes de Trolox, mientras que, en el caso del microencapsulado de goma arábiga presentó 72,22 % de inhibición de DPPH, por lo mismo la concentración en Trolox fue equivalente a 498,33  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . La evaluación de la actividad antioxidante *in vivo* dio un resultado positivo y se verificó con la curva de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en presencia de los microencapsulados, comparándolos con un antioxidante de referencia que fue la vitamina C.

**Palabras clave:** Microesferas, antioxidantes, extracción, secado por aspersión, *Hylocereus undatus*

## ABSTRACT

In this research work, the extraction of anthocyanins from the red pitahaya peel (*Hylocereus undatus*) was performed. In order to preserve the antioxidant activity of anthocyanins, microencapsulation with different types of polymers were assessed by the verification of the antioxidant activity of these flavonoid using *in vitro* and *in vivo* assays. The polymers used in the formation of the microspheres were maltodextrin and gum arabic; with which microencapsulation efficiency values of 77.35% and 94.23% were obtained respectively. The evaluation of *in vitro* antioxidant activity was carried out by the DPPH method, which demonstrated that microencapsulation with maltodextrin produced a percentage of free radical inhibition of 58.60%, that is, 405.01  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  equivalents of Trolox, while in the case of the microencapsulated gum arabic presented 72.22% DPPH inhibition, therefore the concentration in Trolox was equivalent to 498.33  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . The evaluation of antioxidant activity *in vivo* gave a positive result which was verified by the growth curve of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of the microencapsulates, comparing it with a reference antioxidant as vitamin C.

**Keywords:** Microspheres, antioxidants, extraction, spray drying, *Hylocereus undatus*

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA

#### 1.1.Tema de investigación

Microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*).

#### 1.2.Justificación

Las industrias manufactureras de pulpas desechan las cáscaras de la mayoría de los frutos utilizados en sus procesos, contribuyendo así a la contaminación por degradación de materia orgánica, en el caso de la pitahaya la cáscara representa el 50 % del peso total de la fruta (**Galicia, Salinas, Espinoza, & Sánchez, 2007**). Al ser una fruta exótica, su demanda va en incremento en el mercado globalizado, lo que le convierte en un cultivo de alta importancia económica. De los diferentes tipos de pitahayas existentes en el mercado, la variedad más cotizada y utilizada es la pitahaya roja, la cual contiene alta concentración de antocianinas en la cáscara, la extracción de dicho compuesto puede ser aprovechada con fines farmacéuticos. Este compuesto bioactivo podría ser preservado mediante diferentes métodos de microencapsulación, de esta manera, serían protegidos del medio que los rodea hasta su posterior liberación. (**Flores & Chicaiza, 2016**).

La oxidación es un proceso fundamental para la vida, ya que participa en la obtención de la energía celular y dicho proceso consiste en la pérdida de electrones y captación de oxígeno. Sin embargo, cuando existe una producción incontrolada de radicales libres de oxígeno, estos tienden a deteriorar las macromoléculas y a alterar los procesos celulares (**Guerra, 2001**).

Las especies de oxígeno cuyas estructuras incluyen radicales hidroxilo, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico y superóxido, son moléculas altamente reactivas y se dan como un subproducto del metabolismo celular normal de la cadena de transporte de

electrones mitocondrial. La sobreexposición del cuerpo a las especies reactivas de oxígeno contribuye en las enfermedades degenerativas relacionadas con el envejecimiento, como la inflamación, la diabetes, la hepatitis, las afecciones cardiovasculares y el cáncer (**Jato, 2008**). Estas enfermedades son preocupantes, debido a que causan el 29,82 % de las muertes en el mundo. (**Organización Mundial de la Salud, 2018**).

Para contrarrestar los radicales libres, el cuerpo humano tiene defensas naturales, las cuales son antioxidantes enzimáticos, como la superóxido dismutasa y la catalasa, por otro lado, están los antioxidantes no enzimáticos, tales como el glutatión, la vitamina C y la vitamina E. También juegan un papel fundamental los fitoquímicos naturales como los polifenoles y los carotenoides, importantes en la eliminación de las especies reactivas de oxígeno por su alta capacidad de donar hidrógeno y agentes reductores (**Katsube, Iwashita, Tsushida, Yamaki, & Kobori, 2003**).

Las antocianinas y varios compuestos fenólicos poseen actividad antioxidante, además median otras funciones fisiológicas que están relacionadas con la supresión del cáncer, debido a que provocan la apoptosis, mecanismo por el cual se inhibe el crecimiento de las células cancerosas. Las antocianinas tienen un alto nivel de apoptosis en células de leucemia (HL 60) (**Giudice et al., 2016**). Además, las antocianinas se utilizan como colorantes naturales, en reemplazo de los colorantes sintéticos utilizados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, debido a que los colorantes sintéticos se relacionan con la hiperactividad de niños de corta edad lo cual se considera una enfermedad neuronal aguda (**Ortíz, Reza, Chew, & Meza, 2011**).

### **1.3.Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo General**

Microencapsular antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*)

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar físico-químicamente la cáscara de la pitahaya roja.

- Determinar las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de la pitahaya roja
- Desarrollar un producto microencapsulado a partir de las antocianinas extraídas.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de las antocianinas presentes en el producto microencapsulado.



## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes Investigativos

##### 2.1.1. Características de la pitahaya roja

Las cactáceas pertenecen al orden Caryophyllales, y tienen entre 1500 y 2000 especies, de las cuales el 79 % del endemismo se encuentra en México, alrededor de 35 especies tienen potencial para cultivo en la obtención de forraje, estas especies son pertenecientes a los géneros *Hylocereus*, *Selenicereus*, *Cereus*, *Leptocereus*, *Escontria*, *Myrtilloactos*, *Stenocereus* y *Opuntia*. El género *Hylocereus* tiene 16 especies conocidas, entre ellas se encuentra la pitahaya roja conocida como *Hylocereus undatus* (Cruz et al., 2018)

*Hylocereus undatus* es una planta perenne trepadora (Figura 1), originaria del Suroeste de los Estados Unidos de Norteamérica y el Noroeste de México. La palabra pitahaya proviene del idioma taíno, de las Antillas Mayores, que significa “fruta escamosa”, el fruto presenta espinas y una cubierta impermeable, la cual evita la pérdida de agua (López & Guido, 2017).



Figura 1. *Hylocereus undatus*

Fuente: Ecoagricultor

Las áreas donde las pitahayas se desarrollan son generalmente sombreadas, presentándose debajo de los árboles en bosques tropicales y subtropicales. La temperatura promedio de estos bosques es de 24 °C, mientras que la lluvia anual debe ser mayor a los 600 milímetros. En la época de la conquista, los españoles consideraban a la pitahaya roja un fruto exótico por su aspecto, por su sabor y por sus propiedades terapéuticas **(Ricalde & Andrade, 2009)**

El fruto de *Hylocereus undatus* es una baya de gran tamaño y se presenta en diferentes formas: ovoide, redondeado o alargado. La cáscara tiene brácteas de aspecto carnoso y ceroso. La coloración de estos frutos varía desde rojo intenso, morado claro y amarillo claro. Estos pigmentos se biosintetizan a partir de tirosina por medio de varias reacciones químicas enzimáticas espontáneas. Los pigmentos son solubles en agua nitrogenada o con contenido de ácido betalámico **(Suh et al., 2014)**.

La pitahaya roja (Figura 2), tiene una longitud que varía de 8 a 12 cm, mientras que su peso va desde 150 hasta 700 g **(López & Guido, 2017)**. En cuanto a lo industrial, se puede señalar que el colorante rojo de sus frutos es utilizado en la elaboración de helados, sorbetes y repostería; así como en la industria farmacéutica, por el alto contenido de antocianinas que posee, cabe recalcar que dicho metabolito es muy cotizado en el mercado de Estados Unidos, teniendo un costo de \$1000,00 cada kilogramo de antocianinas. **(Wu et al., 2011)**



Figura 2. Pitahaya roja

Fuente: Málaga, frutas y verduras

Este tipo de flavonoides son responsables de varias actividades farmacológicas como las acciones antitumorales, antioxidantes y antiinflamatorias (**Luo, Cai, Peng, Liu, & Yang, 2014**). Los constituyentes que predominan en el extracto de la pitahaya roja son:  $\beta$ -amirina,  $\gamma$ -sitosterol, octadecano, heptacosano, campesterol, nonacosano, ácido tricloroacético y hexadecil éster. La mayoría del contenido que lo constituyen son esteroides (**Suh et al., 2014**)

### **2.1.2. Flavonoides (Antocianinas)**

El gran interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su extensa actividad farmacológica, ya que pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como transportadores de hormonas, enzimas y ADN; funcionan como agentes quelantes de iones metálicos; tales como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ; catalizan el transporte de electrones y eliminan radicales libres (**Martinez & Culebras, 2002**). Los flavonoides extraen el oxígeno reactivo, en especial los que están en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos, de esta manera bloquean la acción letal de dichas sustancias sobre las células. Varios flavonoides son utilizados para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico, los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los hematíes o en la autooxidación de los homogeneizados de cerebro (**Ortíz et al., 2011**).

Los flavonoides presentan en común un esqueleto hidrocarbonado del tipo  $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ , se deriva del ácido shikímico y de tres residuos de acetato, en su estructura química contienen varios grupos hidroxilo fenólicos, son un grupo de pigmentos naturales y se encuentran distribuidos en el reino vegetal, estos constituyen varios colores como el amarillo, rojo y azul y son indispensables en el desarrollo y funcionamiento de las plantas. Se han identificado más de 5 000 flavonoides, entre estos, los que más se destacan son: los citroflavonoides, isoflavonoides, proantocianidinas, antocianidinas, ácido elágico, catequina y kaemferol (**Sembiring et al., 2018**). Las antocianidinas son un grupo de pigmentos responsables del color rojo y azul. Son el grupo más importante de los pigmentos hidrosolubles que son detectables en la región visible por el ojo humano (**Degáspari & Waszczy, 2004**).

Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas que están formadas por una aglicona unida a un azúcar por un enlace glucosídico, están presentes en diferentes órganos de las plantas, como raíz, hojas, tallos, flores y frutos. Las antocianinas por su parte tienen un gran inconveniente y es que son sensibles a factores externos como el pH, la luz y la temperatura, además susceptibles a la degradación durante su procesamiento (Ortíz et al., 2011).

### 2.1.3. Microencapsulación (microesferas)

La microencapsulación es una alternativa importante para desarrollar sistemas de liberación de péptidos y proteínas. Existen varias proteínas que se emplean como agentes terapéuticos, algunas presentan limitaciones como su inestabilidad fisicoquímica en algunos fluidos corporales (saliva y jugos gástricos), lo cual limita el uso de varias vías de administración (Reddy, 2014). Debido a estos inconvenientes se han propuesto tres sistemas, los cuales se han aplicado con éxito con proteínas, como son los basados en la modificación química de biomoléculas con polietilenglicol y los que se basan en la microencapsulación de estas biomoléculas ya sea en sistemas lipídicos (liposomas) o poliméricos (microesferas)(Flores & Chicaiza, 2016).

Las microesferas son elaboradas con polímeros biológicamente compatibles como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas. En este caso el activo está distribuido en la matriz polimérica y es liberado por dos mecanismos: por difusión a través de la matriz, y por la degradación del polímero, que provoca la erosión de las partículas. Los polímeros que se utilizan pueden ser naturales y sintéticos, entre estos últimos se destacan los copolímeros del ácido láctico y del ácido glicólico (Islas, 2014).

La microencapsulación nace en el año 1931, con un estudio que detallaba la formación de microcápsulas de gelatina, según un procedimiento llamado “coacervación”(Pasin, Azón, & Garriga, 2012). La microencapsulación consiste en recubrir la sustancia de interés ya sea sólida, líquida o gaseosa con una película inmisible, resistente y estable que sea adherente con el núcleo, de un material polimérico o graso las cuales dan origen a partículas micrométricas de flujo libre, que se las llama micropartícula,

microcápsula o microesfera, estas estructuras se alteran de tal manera que liberan su contenido en medios específicos. El tamaño de cada una varía entre 0,5 y 200 micrómetros (**López & Villalta, 2009**)

La aplicación de la microencapsulación se extendió a diferentes ramas tales como: la agricultura, en la microencapsulación de fertilizantes, las construcciones navales, en la producción de cubiertas de tornillos con el fin de protegerlos de la corrosión, la industria cosmética, en la elaboración de desodorantes, champú y nebulizadores, la industria médico-farmacéutica, para enmascarar propiedades organolépticas indeseables que pueden presentar algunos activos; recubrir partículas que por su forma irregular, son más complicadas de comprimir; transformar principios activos líquidos en sólidos, por su fácil manipulación y en especial el diseño de formulaciones de liberación sostenida o prolongada de fármacos (**Jato, 2008**). Con ese propósito y la de prevenir la irritación gástrica fueron microencapsulados varios medicamentos, de los cuales la aspirina aparece citada como uno de los primeros fármacos que fue microencapsulado (**Parra, 2011**)

#### **2.1.4. Acción antioxidante**

Un radical libre tiene en su estructura uno o más electrones desapareados. Estas especies son altamente reactivas y son un factor de gran importancia en la formación de otros radicales libres en cadena, al tener un tiempo de vida promedio de microsegundos se da una rápida propagación con moléculas vecinas. Por este motivo un solo radical libre puede afectar a un millón de moléculas durante la reacción en cadena. Los radicales libres son liberados durante el metabolismo, pero este no es el único detonante, ya que también se puede dar por contaminantes ambientales, radiaciones, consumo de sustancias tóxicas como el alcohol, tabaco y drogas, por una alimentación inadecuada y la sobreexposición a fertilizantes o pesticidas. (**Coronado, Vega, Gutiérrez, Vázquez, & Radilla, 2015**)

Para proteger al organismo de los radicales libres existen dos vías principales; enzimáticas y no enzimáticas, y su interacción puede darse de manera intra o extracelular. La vía enzimática generalmente demanda apoyo externo, por lo cual

entran en juego los antioxidantes no enzimáticos que son de alta importancia dado que pueden formar parte de la dieta diaria. Los antioxidantes dietéticos son sustancias propias de varios alimentos de consumo cotidiano, que previenen los efectos adversos de especies reactivas. La acción antioxidante en el organismo representa el balance rédox, de esta manera el oxidante se reduce al reaccionar con la molécula que oxida. La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para impedir la degradación oxidativa, un antioxidante actúa por su gran capacidad de reacción con radicales libres. (Londoño, 2007)

## **2.2.Hipótesis**

### **2.2.1. Hipótesis nula**

No se desarrollará la microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*)

### **2.2.2. Hipótesis alternativa**

Se desarrollará la microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*)

## **2.3. Señalamiento de las variables de la hipótesis**

### **2.3.1. Variables dependientes**

Propiedades antioxidantes y concentración de antocianinas en el microencapsulado.

### **2.3.2. Variables independientes**

Proporción de material vegetal y tiempo de extracción.

## CAPITULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Materiales, equipos y reactivos.

##### 3.1.1. Materiales

- Balones de aforo
- Botellas de cristal color ámbar
- Matraces Erlenmeyer
- Micropipetas
- Microplacas de 96 pocillos para espectrofotómetro
- Núcleos para agitador magnético
- Pera de succión
- Pipetas
- Probetas graduadas
- Tubos para centrifugadora

##### 3.1.2. Equipos

- Balanza analítica (Ohaus PA-214).
- Balanza de humedad (KERN MLS 50-3)
- Centrífuga (Rotina 380)
- Computadora laptop con sistema operativo Windows 10
- Espectrofotómetro UV-VIS (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™ accuSkan™ GO)
- Horno de secado (Gander MTN)
- Licuadora (Oster 4655)
- Mini Spray Dryer (BUCHI-B 290)
- pHmetro (HANNA HI 2221)
- Plancha de calentamiento (Corning PC-620D)
- Procesador de alimentos (Thermomix®)

- Refractómetro manual (BOECO)
- Rotaevaporador (IKA-RV8)
- Software de análisis de datos estadístico y gráfico, Statgraphics XVII 64x

### **3.1.3. Reactivos**

#### **En la extracción de antocianinas se utilizó:**

- Ácido clorhídrico (37 %)
- Etanol (96 %)

#### **En la microencapsulación se utilizó:**

- Goma arábica
- Maltodextrina

#### **En el análisis de actividad antioxidante *in vitro* se utilizó:**

- 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)
- Ácido 6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilico (Trolox)

#### **En el análisis de actividad antioxidante *in vivo* se utilizó:**

- Agua destilada
- Medio de extracto de levadura peptona-dextrosa (YPD)
- Peróxido de hidrógeno comercial
- Tampón fosfato salino (PBS comercial)
- Vitamina C

## **3.2.Métodos**

### **3.2.1. Recolección del material vegetal**

Las pitahayas rojas, fueron adquiridas en el Mercado Modelo de Ambato en la Provincia de Tungurahua. El material vegetal seleccionado fue fresco y en las mejores condiciones sanitarias posibles.



### **3.2.2. Caracterización del material vegetal**

#### **3.2.2.1. Potencial de Hidrógeno (pH)**

La cáscara de la pitahaya roja se lavó y secó, para posteriormente colocar en la licuadora (Oster 4655), de donde se obtuvo un fluido espeso. Para la medición se mezclaron 5 g de este fluido con 45 ml de agua destilada, a continuación, se calibró el potenciómetro digital (HANNA HI 2221) y se midió el pH.

#### **3.2.2.2. Acidez titulable.**

Una vez licuada la pitahaya roja, se mezclaron 5 g del fluido espeso obtenido, con 45 ml de agua destilada, se colocó fenolftaleína como indicador y se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M hasta diferenciar el cambio de color. Posteriormente se utilizó la Ecuación 1, en donde A será igual a la acidez titulable en porcentaje de ácido específico (g ácido cítrico/100 g material vegetal); V, será igual al Volumen de solución de NaOH 0,1 M empleado en la titulación (ml) y F será el factor de acidez del ácido cítrico (0,064) (**Acurio, Zamora, Salazar, Pérez, & Valencia, 2015**)

$$A = V * 2 * F$$

*Ecuación 1. Determinación de la acidez titulable*

#### **3.2.2.3. Sólidos solubles (°Brix)**

Se determinó por refractometría, para lo cual, se utilizó un refractómetro manual (BOECO), en donde se colocó una gota del licuado de la cáscara de pitahaya roja y posteriormente se leyó el resultado.

#### **3.2.2.4. Densidad**

En primer lugar, se midieron 2 g de la cascará de pitahaya roja recién sacada del fruto en la balanza analítica (Ohaus PA-214), a continuación se colocó en una probeta 6 ml de agua destilada y se añadió los 2 g de la cáscara de pitahaya medida, de esta manera se registró el volumen de agua desplazada.

Posteriormente, se determinó la densidad aplicando el principio de Arquímedes, en función de la Ecuación 2. En dónde:  $\rho$ , será igual a la densidad ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ),  $m$  será el peso de la muestra (g) y finalmente  $V$  será el volumen obtenido de la misma (ml)

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

*Ecuación 2. Determinación de la densidad*

### **3.2.2.5. Humedad**

Se colocó en la balanza de humedad (KERN MLS 50-3) 3,5 g de la cáscara de pitahaya roja, y se determinó el porcentaje de humedad del material vegetal.

### **3.2.3. Preparación del material vegetal**

Se lavaron las pitahayas rojas con agua destilada y se retiró cuidadosamente la cáscara, para no obtener residuos de la pulpa. Con el fin de obtener resultados favorables, se cortó la cascará en cuadritos pequeños. A continuación, se colocaron los pedazos sobre una malla metálica y se introdujeron en el horno de secado (Gander MTN) a 60 °C de temperatura, durante 20 horas. Una vez transcurrido el tiempo de secado, se trituraron los trozos de la cáscara de pitahaya roja en un procesador de alimentos (Thermomix®), hasta obtener un polvo fino y se lo almacenó en fundas resellables, para evitar un aumento de humedad.

### **3.2.4. Obtención de extractos líquidos – extracción de antocianinas**

Se preparó una mezcla de disolvente formada por 85 % de etanol al 96 % y 15 % de ácido clorhídrico al 37 %. El material vegetal seco, se colocó en matraces Erlenmeyer en dos relaciones de material vegetal con volumen del disolvente (mv-vd) de 1:20 y 1:25 con la mezcla de disolvente. Se expuso los matraces a calentamiento en una plancha Corning PC-620D, con agitación magnética, a una temperatura constante de 70 °C, con dos diferentes tiempos de extracción de 60 y 120 minutos, con tres réplicas respectivamente. La solución final se colocó en tubos de polipropileno para centrífuga

de 50 ml y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm. Finalmente el sobrenadante fue conservado a 4 °C en botellas ámbar de cristal hasta su análisis.

### 3.2.5. Determinación de sólidos totales

Los sólidos totales de los extractos líquidos, se determinaron por triplicado, para ello se utilizó una balanza de humedad (KERN MLS 50-3) y se aplicó la Ecuación 3. El porcentaje de sólidos totales, se obtuvo a partir del porcentaje de humedad que contenían los extractos:

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

*Ecuación 3. Determinación de sólidos totales*

### 3.2.6. Cuantificación de antocianinas por espectrofotometría

La cuantificación de antocianinas se llevó a cabo mediante el método de pH diferencial según AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales), en donde el pH de los extractos se llevó a 1 y 4,5. A continuación se realizaron mediciones por triplicado de los extractos en un espectrofotómetro UV/VIS (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™ accuSkan™ GO) a una longitud de onda de 510 y 700 nm cada uno. Finalmente se utilizó la Ecuación 4 para su cuantificación. En donde TA es la cantidad de antocianinas; A es igual a la diferencia de las absorbancias (Ecuación 5) ; MW es el peso molecular del glucósido de 3 cianidina; DF es el factor de dilución;  $10^3$  es el factor para la conversión de g a mg,  $\epsilon$  es el coeficiente de extinción molar  $26900 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  y 1 es el tamaño que corresponda a la celda en cm. (Lee, Durst, & Wrolstad, 2005)

$$TA \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{A * MW * DF * 10^3}{\epsilon * 1}$$

*Ecuación 4. Determinación de la cantidad de antocianinas*

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$$

*Ecuación 5. Determinación del diferencial de absorbancias*

### **3.2.7. Diseño experimental para optimizar las variables de extracción**

Los resultados se analizaron con el programa StatGraphics versión 16.1 y se llevó a cabo un diseño experimental de superficie de respuesta  $2^2$ , en donde se utilizaron dos variables las cuales fueron; la relación de material vegetal 1:20 y 1:25 y el tiempo que será de 60 y 120 minutos. Este programa fue utilizado para análisis de la varianza, diferencias significativas entre las variables y las interacciones entre ellas.

### **3.2.8. Microencapsulación**

Previo al proceso de microencapsulación se concentró el mejor extracto en el rotaevaporador (IKA-RV8) a una temperatura de 70 °C al vacío, con el fin de eliminar los restos de disolvente presentes en éste. El proceso de microencapsulación del extracto de cáscara de pitahaya que contiene antocianinas se realizó con un mini Spray Dryer BUCHI-B 290, las partículas de interés se dispersaron en una solución de disolvente-polímero en una relación 20:80 respectivamente y se secaron por aspersion en la cámara del Spray Dryer. Los polímeros encapsulantes utilizados para formar las microcápsulas serán maltodextrina y goma arábiga, junto con agua destilada que actuará como disolvente. El material encapsulante se solidificó sobre las partículas de núcleo a medida que el disolvente se evaporó (**Jyothi et al., 2010**)

### **3.2.9. Eficiencia de la microencapsulación**

La determinación de la eficiencia de la microencapsulación con los dos polímeros, se realizó disolviendo 1:10 el microencapsulado en agua destilada y de la misma manera en etanol al 70 %, se agitó por 10 minutos para homogeneizar la solución. Finalmente se midió en un espectrofotómetro UV/VIS (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™ accuSkan™ GO) la absorbancia a 535 nm para obtener la concentración y aplicar la Ecuación 6

$$\%E.E = \frac{\text{Concentración en agua} - \text{Concentración en etanol 70\%}}{\text{Concetración en agua}} * 100$$

*Ecuación 6. Eficiencia de la microencapsulación*

### **3.2.10. Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro***

Se añadió 20 µl de la muestra diluida a 180 µl de solución de DPPH (150 µmol l<sup>-1</sup>) en metanol-agua (80:20 v/v) y se agitó durante un minuto, en una microplaca de 96 pocillos. Después de 40 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 515 nm en el lector de microplacas de un espectrofotómetro (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™ accuSkan™ GO). Posteriormente se utilizó el Trolox como estándar a 50 –500 µmol l<sup>-1</sup> para generar una curva de calibración. El porcentaje de inhibición de DPPH se calculó utilizando la Ecuación 7, en donde Abs<sub>muestra</sub> es la absorbancia a 515 nm de 20 µl de extracto o estándar con 180 µl de solución de DPPH después de 40 minutos; Abs<sub>blanco</sub> es la absorbancia a 515 nm de 20 µl de agua con 180 µl de metanol-agua (80:20, v/v) después de 40 minutos, y Abs<sub>control</sub> es la absorbancia a 515 nm de 20 µl de agua con 180 µl de solución de DPPH después de 40 minutos (**Bobo, Davidov, Arroqui, & Marín, 2014**)

$$\% \text{ de inhibición de DPPH} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs}_{\text{muestra}} - \text{Abs}_{\text{blanco}}}{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{blanco}}} \right) \right] * 100$$

*Ecuación 7. Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH*

### **3.2.11. Evaluación de la actividad antioxidante *in vivo***

Se aisló la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a partir de un sobre de levadura comercial de panadería, mediante estría compuesta en medio Extracto de Levadura Peptona Dextrosa (YPD), se incubó a 28 °C durante 72 horas y se conservó en refrigeración a 4 °C. Posteriormente se tomó una colonia de *S. cerevisiae* e incubó en 5 ml de medio (YPD), se incubó durante 6 horas a 28 °C y 100 min<sup>-1</sup>. Posteriormente se tomó 5 µl de una dilución 1/10 del cultivo incubado e inoculó en un tubo con medio YPD manteniendo este en incubación durante 18 horas a 28 °C y 100 min<sup>-1</sup>. Al

terminar, se centrifugó a  $2700 \text{ min}^{-1}$  durante 20 minutos a temperatura ambiente, se lavó con buffer fosfato salino comercial (PBS) pH 7,4; se diluyó en el mismo buffer hasta una absorbancia de 0,1 medida a 600 nm. Se dejó reposar durante 30 minutos a  $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , se añadió peróxido de hidrógeno a varias concentraciones y se incubó a  $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 1 hora en la oscuridad y sin agitación. Luego se centrifugó a  $2700 \text{ min}^{-1}$  por 20 minutos a temperatura ambiente y se realizó un lavado con PBS, se resuspendió en 3 ml de medio YPD y se sembró 250  $\mu\text{l}$  de cada cultivo por triplicado en una placa de 96 pocillos. Se incubó a  $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$  la placa de 96 pocillos en el lector multiplaca y se evaluó el crecimiento mediante la medición de la absorbancia a 600 nm durante 23 horas a intervalos de 20 minutos con agitación antes de cada lectura. Finalmente se determinó la “razón de crecimiento” a diferentes tiempos de incubación mediante la Ecuación 8. En donde  $D.O_{600\text{nm}}$  será la Absorbancia a 600 nm (**Troncoso, Fernández, Villaño, & García, 2006**).

$$\text{Razón de crecimiento} = \frac{D.O_{600\text{nm}} \text{ de la curva a analizar}}{D.O_{600\text{nm}} \text{ de la curva control}}$$

*Ecuación 8. Determinación de la razón de crecimiento*

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Análisis y Discusión de resultados

##### 4.1.1. Caracterización del material vegetal

Se realizaron 5 réplicas de cada parámetro (Tabla 1), el primer parámetro analizado fue el pH, obteniéndose un valor promedio de  $4,70 \pm 0,1$  de la cáscara de pitahaya roja, esto indicó que la muestra fue de carácter ácido, el pH de la pitahaya roja generalmente se encuentra entre 4 y 5, la cáscara al ser parte del fruto tuvo un pH similar (**Campos, Espinoza, Campos, & Hernández, 2011**). La acidez titulable fue de 0,0256 g de ácido cítrico por cada 100 g del material vegetal, se tomó en cuenta el factor de acidez del ácido cítrico, puesto que la concentración predominante en la cáscara de pitahaya fue de dicho ácido (**Acurio et al., 2015**). El análisis de sólidos solubles indicó un valor de 13,1 % de azúcar disuelto en 100 g de solución (**Suh & Rodríguez, 2017**). El estudio mostró que la cáscara de pitahaya roja analizada tuvo una densidad superior a la del agua con un valor de  $1,41 \text{ g.cm}^{-3}$ . Finalmente la humedad contenida en este material vegetal fue de 91,93 %.

Tabla 1. Caracterización de la cáscara de pitahaya roja

Parámetros Réplica	Potencial de Hidrógeno (pH)	Acidez titulable (g ácido cítrico por cada 100 g material vegetal)	(°Brix)	Densidad ( $\text{g.cm}^{-3}$ )	Humedad (%)
1	4,70	0,0256	13,0	1,42	91,96
2	4,68	0,0256	13,1	1,42	92,05
3	4,72	0,0256	13,1	1,53	91,76
4	4,70	0,0256	13,1	1,33	92,04
5	4,70	0,0256	13,0	1,33	91,87
<b>Promedio</b>	4,70	0,0256	13,1	1,41	91,93

#### 4.1.2. Diseño Experimental

El diseño experimental (DE) utilizado fue un diseño factorial 2<sup>2</sup>, a partir del cual se obtuvo un análisis de la varianza (ANOVA) como se observa en la Tabla 2. El análisis de varianza se utilizó para determinar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos estudiados (Vera, 2015).

Tabla 2. Análisis de varianza para antocianinas en la cáscara de pitahaya

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>A:Relación</b>	1,17688	1	1,17688	6,67	0,0416
<b>B:Tiempo</b>	13,6022	1	13,6022	77,08	0,0001
<b>AB</b>	21,3707	1	21,3707	121,10	0,0000
<b>bloques</b>	0,261596	2	0,130798	0,74	0,5156
<b>Error total</b>	1,05884	6	0,176473		
<b>Total (corr.)</b>	37,4702	11			

El valor del coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) fue de 97,17 % cercano a 100 %, indicando que existió mayor fuerza de asociación entre las dos variables (Laguna, 2012). Es decir R<sup>2</sup> representa la interacción entre el tiempo y la relación de mv-vd. El análisis de ANOVA arrojó la Ecuación 9, en donde A representa la cantidad de antocianinas; R es la relación de mv-vd y T es el tiempo de extracción.

$$A\left(\frac{mg}{g}\right) = 41,079 - 1,72667 * R - 0,364861 * T + 0,0177933 * R * T$$

*Ecuación 9. Ecuación del modelo ajustado*

El valor óptimo de la cantidad de antocianinas fue de 7,5 mg.g<sup>-1</sup>, éste valor fue obtenido de los mejores tratamientos, que fueron de una relación de mv-vd de 1:25, con un tiempo óptimo de 120 minutos.



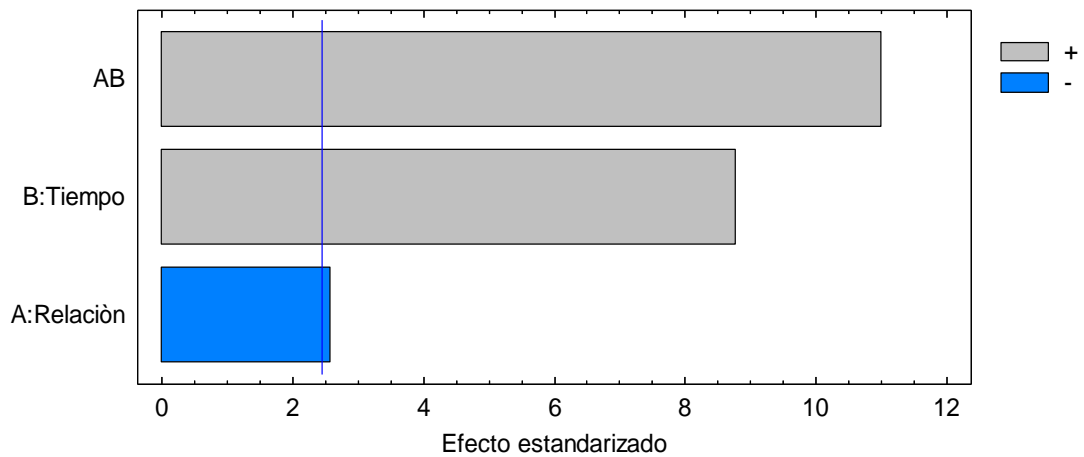


Figura 3. Diagrama de Pareto de la influencia de los factores en la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de pitahaya roja

La Figura 3, muestra el diagrama de Pareto que indica la influencia que tuvieron las variables utilizadas una respecto a otra. Los factores que influyeron significativamente fueron el tiempo y la relación mv-vd, debido a que ambos superan el límite del 95 % de confianza. El diagrama de Pareto es una gráfica utilizada en la organización de datos en forma descendente y permite dar un orden de prioridades con respecto a diferentes factores tomados en cuenta (Izar, 2016).

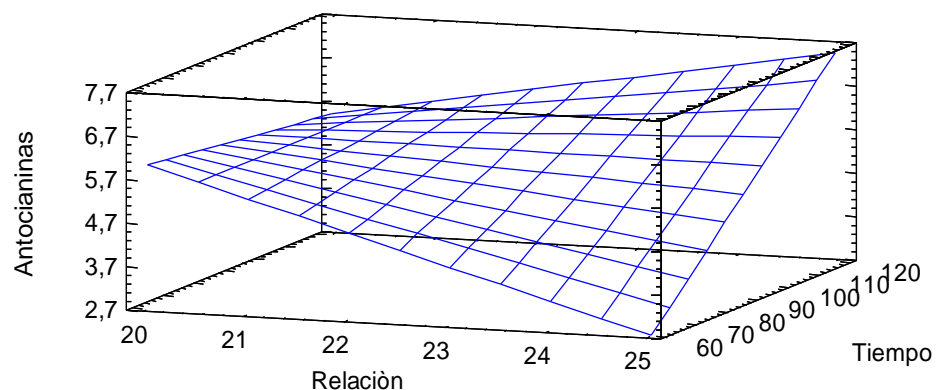


Figura 4. Gráfica de superficie de respuesta de los efectos principales en la extracción de antocianinas

La Figura 4 muestra el gráfico de superficie de respuesta para la obtención de antocianinas, el cual permite estudiar la influencia de los factores utilizados como son tiempo de extracción y relación mv-vd, en el valor óptimo de extracción determinado por la cantidad de antocianinas. La cantidad máxima de antocianinas se obtuvo a un tiempo de 120 minutos y a una relación mv-vd de 1:25, con lo cual se alcanzó una concentración de antocianinas de 7,5 mg.g<sup>-1</sup>. El estudio permitió deducir que no hubo saturación de la cantidad de material vegetal en el disolvente, por ello el tiempo de extracción es el factor que muestra mayor influencia en este proceso.

#### 4.1.3. Eficiencia de microencapsulación de las antocianinas

La maltodextrina y la goma arábica provocan que las moléculas microencapsuladas tengan gran solubilidad en agua. En los resultados expresados en la Tabla 3, se puede observar que el microencapsulado con mayor eficiencia fue el elaborado con goma arábica con un valor de 94,32 %; mientras que los microencapsulados de maltodextrina (Tabla 4) tuvieron un valor de 77,35 %, la alta eficiencia se debió a tres factores importantes: el caudal de alimentación, la temperatura de entrada de la emulsión y el polímero utilizado. (Figuroa, Ceballos, & Hurtado, 2016)

*Tabla 3. Eficiencia de la microencapsulación con goma arábica*

<b>Relación 1:10</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración ( mg.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Promedio de la concentración (mg.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Eficiencia del microencapsulación (%)</b>
<b>Agua</b>	0,5087	8,49	8,49	94,32
	0,5093	8,50		
	0,5089	8,49		
<b>Etanol</b>	0,0289	0,48	0,49	
	0,0297	0,50		
	0,0292	0,49		

Tabla 4. Eficiencia de la microencapsulación con maltodextrina

Relación 1:10	Absorbancia	Concentración (mg.g <sup>-1</sup> )	Promedio de la concentración (mg.g <sup>-1</sup> )	Eficiencia del microencapsulación (%)
Agua	0,7603	12,69	12,69	77,35
	0,7618	12,71		
	0,7596	12,68		
Etanol	0,1740	2,90	2,87	
	0,1684	2,81		
	0,1746	2,91		

El caudal de alimentación de la dispersión al Mini Spray Dryer (BUCHI-B 290) fue pequeño y este afecta directamente al rendimiento, mientras mayor sea el caudal de alimentación, la transferencia de masa y calor será lenta, por lo tanto su rendimiento será menor. Por otro lado la temperatura está relacionada con la velocidad de evaporación de agua y la velocidad de la formación de la pared. Estudios realizados en la microencapsulación de berenjena, han demostrado que las temperaturas que prometen una microencapsulación eficiente son de 150 °C para la temperatura de entrada y 175 °C en la temperatura de salida. Si la temperatura de entrada del aire es demasiado alta se producen microencapsulados con paredes de recubrimiento delgadas y favorecen la breve liberación y degradación del compuesto encapsulado, por lo que se daría la disminución de la eficiencia de la microencapsulación (**González, Tarón, & Morón, 2015**).

Los microencapsulados con goma arábica son altamente eficientes debido a que dicho polímero posee ciertas características estructurales las cuales le confieren un carácter anfipático, es decir posee la capacidad de formar emulsiones estables con una gran cantidad de aceites, lo que le permite actuar como un coloide protector o un buen agente formador de cápsulas y películas. Por su parte la maltodextrina es un polímero de baja viscosidad en alta proporción de sólidos y tiene mayor efectividad con partículas hidrofílicas. (**Parra, 2011**).

#### **4.1.4. Actividad antioxidante *in vitro* del microencapsulado de la cáscara de pitahaya roja**

En esta prueba se utilizó 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) como compuesto oxidante, éste radical libre es susceptible a compuestos antioxidantes. Los compuestos antioxidantes proporcionan átomos de hidrógeno a los radicales libres y los estabilizan (Guija, Ponce, & Zarzosa, 2015). El antioxidante utilizado fue Trolox con el cual se obtuvo una curva estándar con un rango de 50 a 500  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ , la cual se observa en el Anexo 5.

Para determinar el porcentaje de inhibición del DPPH por parte de los microencapsulados formados con maltodextrina y goma arábiga, se probaron concentraciones de 2,5  $\text{g.l}^{-1}$  de éstos; de los cuales el microencapsulado con goma arábiga presentó el mayor valor con 72,22 % de inhibición de DPPH, por lo mismo la concentración en Trolox es equivalente a 498,33  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ , esto se debió a que la goma arábiga es anfipática y al estar en un medio alcohólico, se le facilitó la liberación del antioxidante del microencapsulado. El microencapsulado con maltodextrina por su parte presentó un valor de 58,60 % de inhibición de DPPH; mientras que la misma cantidad del microencapsulado de maltodextrina fue de 405,01  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . En ambos casos fueron concentraciones altas, por lo que se estableció la existencia de la inhibición por parte de los microencapsulados.

#### **4.1.5. Actividad antioxidante *in vivo* de microencapsulado de la cáscara de pitahaya roja**

Los cambios físicos o químicos del medio en el que se encuentra una célula, pueden ocasionar alteraciones negativas en éstas, por lo que la célula necesita dar una respuesta rápida a dichas alteraciones, de manera que puedan adaptarse a los cambios provocados. *S cerevisiae* es un microorganismo que ha desarrollado diferentes respuestas al estrés oxidativo y sus complejos mecanismos de defensa son de alta importancia para un posterior estudio en eucariotas superiores. Los flavonoides por su parte, limitan la acción de los radicales libres (oxidantes) (Rodríguez & Martínez, 2002). El análisis *in vivo*, se realizó con la levadura *S cerevisiae*, con el fin de

comprobar la actividad antioxidante de los microencapsulados a una concentración de  $25 \text{ mg.ml}^{-1}$ , cada uno.

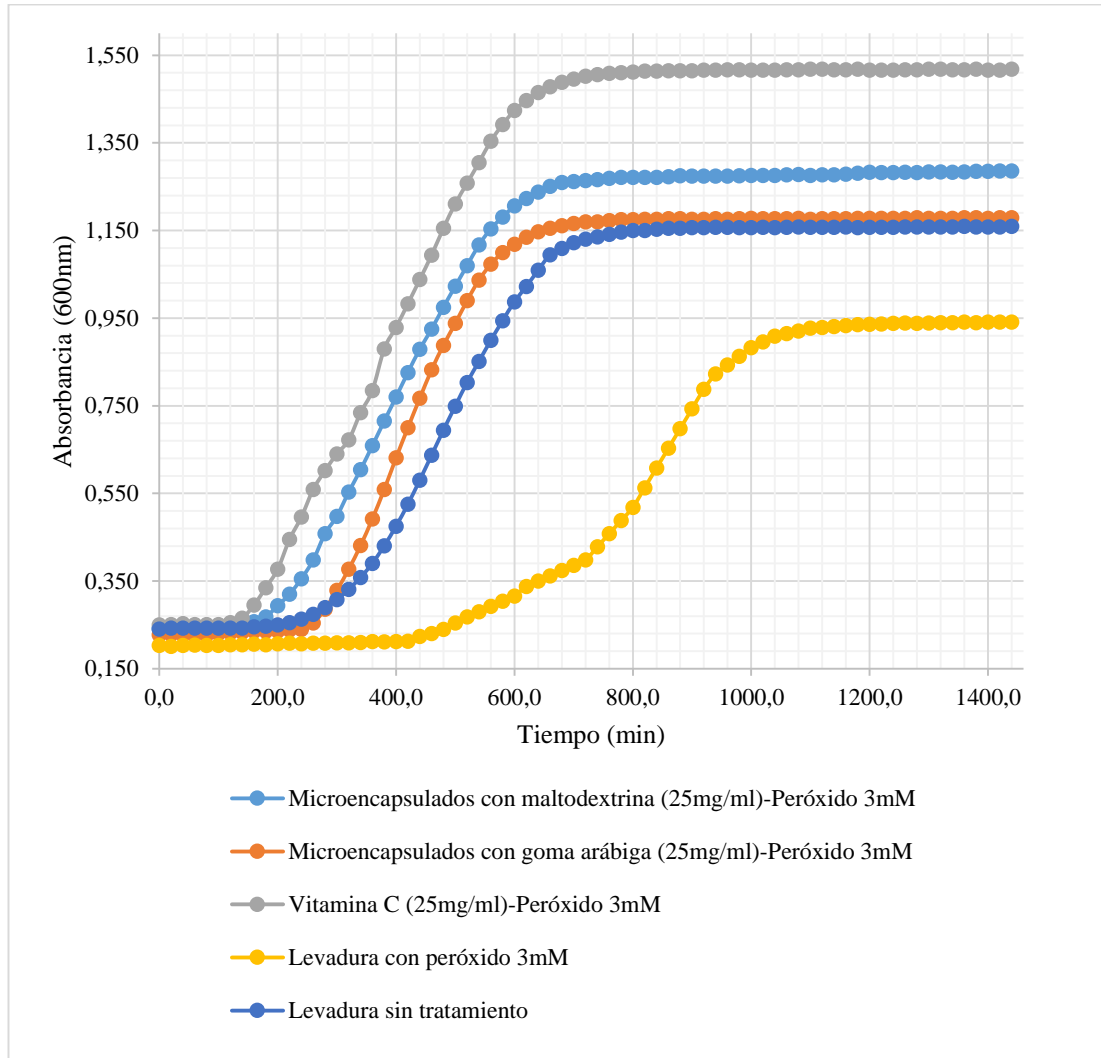


Figura 5. Actividad antioxidante de microencapsulados ( $25 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) in vivo en *S. cerevisiae*

La Figura 5, muestra las curvas de crecimiento de la levadura expuesta al microencapsulado en una concentración de  $25 \text{ mg.ml}^{-1}$  de maltodextrina y goma arábica. El control positivo utilizado fue levadura con la vitamina C a la misma concentración ( $25 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), mientras que el control negativo fue la levadura sola. Los controles y tratamientos fueron estresados con peróxido de hidrógeno junto con un control de crecimiento de levadura sin tratamientos. Como control positivo se utilizó vitamina C por su alto poder antioxidante, ya que bioquímicamente ayuda a combatir

los radicales libres provocados por efectos oxidativos en el organismo (**National Institutes of Health, 2012**).

De las seis curvas de crecimiento obtenidas, Figura 5, la curva con menor crecimiento fue la del control negativo, un resultado esperado debido a la oxidación inducida, la fase de latencia duró 440 minutos y en comparación con las demás curvas es relativamente larga. La levadura necesitó mayor tiempo de adaptación, debido a que tenía altas concentraciones de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno aplicado en levaduras es un agente tóxico, que reacciona con macromoléculas indispensables para el microorganismo modificando su estructura y función, de esta manera causa un desbalance intracelular llamado estrés oxidativo que produce la muerte de la levadura (**Folch, Garay, Lledías, & Covarrubias, 2004**). Cuando los mecanismos de respuesta antioxidante de las levaduras no responden a condiciones de oxidación, la levadura entra en un estado basal para disminuir el gasto energético, lo que lleva a la célula a detener su ciclo celular, así como su replicación por mecanismos moleculares (**Vital & Larralde, 2016**). La concentración de biomasa en el caldo estuvo directamente relacionada con la turbidez del medio, de esta manera se determinó su crecimiento máximo en absorbancia, obteniéndose un valor de 0,941 (**Camacho & Sáenz, 2010**).

La curva del control positivo tuvo una fase de latencia que duró 120 minutos, debido a que tuvo un antioxidante altamente efectivo que fue la vitamina C, el cual ayudó a contrarrestar los efectos del peróxido de hidrógeno en la levadura. (**Rodríguez & Martínez, 2002**). El valor del punto máximo en la curva de crecimiento fue el mayor en comparación de los demás tratamientos, dando un valor de absorbancia de 1,518.

El punto máximo de la curva de crecimiento de la levadura sin tratamientos tuvo una absorbancia de 1,159; la fase de adaptación en relación a la curva de crecimiento del control positivo fue un poco más larga, duró 200 minutos, debido a que la levadura en su metabolismo normal produce agentes oxidantes y provoca que se activen mecanismos de defensa propios, en donde utilizan catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasas para evitar el daño oxidativo aumentando así su etapa de adaptación a

diferencia del control positivo que tiene un agente antioxidante que ayudó a reducir los efectos provocados por el metabolismo (**Katsube et al., 2003**).

En el caso del tratamiento con microencapsulado de antocianinas extraídas de cáscara de pitahaya roja con maltodextrina y goma arábiga, la fase de latencia duró 140 y 240 minutos respectivamente, valores que son mayores que el control positivo pero menores que el control negativo, esto quiere decir que el microencapsulado de antocianinas si tuvo efecto antioxidante en ambos casos. Por otro lado los valores identificados a los 1380 minutos (23 horas) del microencapsulado con maltodextrina y goma arábiga fueron mayores que el valor obtenido del crecimiento de la levadura sin tratamientos con absorbancias de 1,286 y 1,179 respectivamente, por lo tanto ambos tratamientos tienen capacidad antioxidante, debido a que ayudaron a llevar las condiciones de estrés y redujeron los efectos que el peróxido de hidrógeno produce en la estructura celular del microorganismo.

#### **4.2.Verificación de la hipótesis**

Por medio del análisis de los datos obtenidos en los distintos ensayos realizados *in vitro* e *in vivo* se determinó que:

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

$H_a = 0$  Se acepta la hipótesis alternativa por lo que se considera que los factores analizados si influyen en las actividad antioxidante.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- Se caracterizó físico-químicamente la cáscara de la pitahaya roja, tomando en cuenta características específicas del material vegetal como pH con un valor de  $4,70 \pm 0,1$ ; acidez titulable con un valor de 0,0256 g de ácido cítrico por cada 100 g del material vegetal; los sólidos solubles un valor de 13,1 % de azúcar disuelto en 100 g de solución, una densidad con un valor de  $1,41 \text{ g.cm}^{-3}$  y humedad con un valor de 91,93 %.
- Se determinaron las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de la pitahaya roja. Estas fueron a una relación de mv-vd de 1:25 y a un tiempo de 120 minutos, cabe recalcar que de estos dos factores tomados en cuenta el que tuvo mayor influencia en la extracción fue el tiempo.
- Se desarrolló un producto microencapsulado en forma de microesferas a partir de las antocianinas extraídas, con la ayuda de los polímeros, maltodextrina y goma arábiga, los que mostraron una eficiencia de microencapsulación de 77,35 % y 94,23 % respectivamente, resultando con mayor eficiencia las microesferas con goma arábiga.
- Se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de las antocianinas presentes en el producto microencapsulado. A partir del ensayo antioxidante *in vitro* se obtuvieron resultados positivos en ambos microencapsulados, con goma arábiga tuvo una mayor inhibición de DPPH con un valor de 72,22 %, y  $2,5 \text{ g.l}^{-1}$  de microencapsulado fue equivalente en Trolox a  $498,33 \mu\text{mol.l}^{-1}$ , mientras que el microencapsulado con maltodextrina presentó un valor de 58,60 % de inhibición de DPPH; y su equivalente en Trolox fue de  $405,01 \mu\text{mol.l}^{-1}$  en una concentración de microencapsulado de  $2,5 \text{ g.l}^{-1}$ . En la evaluación *in vivo* se utilizó *S. cerevisiae*, en donde las curvas de crecimiento correspondientes a los



microencapsulados de maltodextrina y goma arábica en comparación con los controles, mostraron actividad antioxidante.

## **5.2. Recomendaciones**

- Identificar qué tipo de antocianinas específicas posee el extracto de la cáscara de pitahaya roja.
- Microencapsular el concentrado de antocianinas de la cáscara de pitahaya roja con otros polímeros.
- Realizar una comparación con extracto de pitahaya amarilla.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acurio, L., Zamora, A., Salazar, D., Pérez, L., & Valencia, A. (2015). Propiedades físicas, químicas, térmicas y nutricionales de la badea (*Passiflora quadrangularis*, 5, 95–101. Recuperado de [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27307/1/AL\\_659.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27307/1/AL_659.pdf)
- Barragán, M., Aro, J., Huamaní, V., & Cartagena, R. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio-mio (*Coriaria ruscifolia* L), 20(4), 419–428. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/ria/v20n4/a05v20n4.pdf>
- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., & Marín, M. (2014). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts , and comparison with conventional spectrophotometric methods. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Camacho, L. N., & Sáenz, R. T. (2010). IMPLEMENTACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINACIÓN DE BIOMASA BACTERIANA DE CEPAS *Pseudomonas putida* BIODEGRADORAS DE FENOL, 41–46. Recuperado de <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistaion/article/view/954/1317>
- Campos, E., Espinoza, J. M., Campos, R. G., & Hernández, A. D. (2011). EVALUACIÓN DE PLANTAS DE PITAYA (*Stenocereus* spp) DE POBLACIONES NATURALES DE MONTE ESCOBEDO, ZACATECAS. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(3), 173–181. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v17n3/v17n3a9.pdf>
- Coronado, M., Vega, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes : perspectiva actual para la salud humana. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- Cruz, J. A. M., Herrera, G. R., Rodríguez, L., Ortiz, R., Guevara, M. D. L. Á., & Fonseca, F. (2018). Review Pitahaya ( *Hylocereus* spp .) a fitogenetic resource with an history and future for the dry tropic of Mexico. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v36s1/ctr07s115.pdf>
- Degáspari, C., & Waszczy, N. (2004). Propiedades antioxidantes de compuestos fenólicos, 33–40. Recuperado de <https://revistas.ufpr.br/academica/article/viewFile/540/453>

- Figueroa, P. M., Ceballos, M. A., & Hurtado, A. M. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído con CO<sub>2</sub> supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, 45(2), 39–49. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/310471209\\_Microencapsulacion\\_mediante\\_secado\\_por\\_aspersion\\_de\\_aceite\\_de\\_mora\\_Rubus\\_glaucus\\_extraido\\_con\\_CO2\\_supercritico/link/5a15b61c0f7e9bc6481c73e0/download](https://www.researchgate.net/publication/310471209_Microencapsulacion_mediante_secado_por_aspersion_de_aceite_de_mora_Rubus_glaucus_extraido_con_CO2_supercritico/link/5a15b61c0f7e9bc6481c73e0/download)
- Flores, A., & Chicaiza, V. (2016). Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5760/1/AGI-2016-T015.pdf>
- Folch, J., Garay, A., Lledías, F., & Covarrubias, A. (2004). La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, 46, 32. Recuperado de [https://www.researchgate.net/profile/Jorge\\_Folch-Mallol/publication/6733600\\_The\\_stress\\_response\\_in\\_the\\_yeast\\_Saccharomyces\\_cerevisiae/links/0deec538ce70b9c1a1000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Folch-Mallol/publication/6733600_The_stress_response_in_the_yeast_Saccharomyces_cerevisiae/links/0deec538ce70b9c1a1000000.pdf)
- Galicia, L., Salinas, Y., Espinoza, B., & Sánchez, C. (2007). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada, 14(2), 121–129. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2008000200004&..>
- Giudice, R., Petruk, G., Raiola, A., Barone, A., Maria, D., & Manuela, M. (2016). Carotenoids in fresh and processed tomato ( *Solanum lycopersicum* ) fruits protect cells from oxidative stress injury. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/305451773\\_Carotenoids\\_in\\_fresh\\_and\\_processed\\_tomato\\_Solanum\\_lycopersicum\\_fruits\\_protect\\_cells\\_from\\_oxidative\\_stress\\_injury](https://www.researchgate.net/publication/305451773_Carotenoids_in_fresh_and_processed_tomato_Solanum_lycopersicum_fruits_protect_cells_from_oxidative_stress_injury)
- González, R. E., Tarón, A., & Morón, L. B. (2015). Formación de Microcápsulas de Tamaño Controlado por Gelación Iónica Utilizando Mezclas Biopoliméricas Binarias, 26(6), 31–38. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000600005>
- Guerra, J. (2001). Estrés oxidativo , enfermedades y tratamientos antioxidantes, 18, 326–335. Recuperado de <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
- Guija, P., Ponce, J., & Zarzosa, N. (2015). Evaluación de la técnica 2 , 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo ( DPPH ) para determinar capacidad antioxidante, 2(1), 0–3. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>

- Islas, R. P. (2014). Alimentos Microencapsulados : Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas, (May). Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/228544375\\_Alimentos\\_Microencapsulados\\_Particularidades\\_de\\_los\\_Procesos\\_para\\_la\\_Microencapsulacion\\_de\\_Alimentos\\_para\\_Larvas\\_de\\_Especies\\_Acuicolas](https://www.researchgate.net/publication/228544375_Alimentos_Microencapsulados_Particularidades_de_los_Procesos_para_la_Microencapsulacion_de_Alimentos_para_Larvas_de_Especies_Acuicolas)
- Izar, J. M. (2016). Diagrama de Pareto, (May 2004). Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/303876853\\_CAPITULO\\_IV\\_41\\_Diagrama\\_de\\_Pareto/link/575a0e2308aed884620b2dee/download](https://www.researchgate.net/publication/303876853_CAPITULO_IV_41_Diagrama_de_Pareto/link/575a0e2308aed884620b2dee/download)
- Jato, L. V. (2008). *Tecnología farmacéutica* (Síntesis). Recuperado de [https://www.academia.edu/25711281/TECNOLOGIA\\_FARMACEUTICA\\_Volumen\\_I\\_Aspectos\\_fundamentales\\_de\\_los\\_sistemas\\_farmacéuticos\\_y\\_operaciones\\_básicas](https://www.academia.edu/25711281/TECNOLOGIA_FARMACEUTICA_Volumen_I_Aspectos_fundamentales_de_los_sistemas_farmacéuticos_y_operaciones_básicas)
- Jyothi, N., Prasanna, P., Sakarkar, S., Prabha, K., Ramaiah, P., & Srawan, G. (2010). Microencapsulation techniques , factors influencing encapsulation efficiency, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Katsube, N., Iwashita, K., Tsushida, T., Yamaki, K., & Kobori, M. (2003). Induction of Apoptosis in Cancer Cells by Bilberry ( *Vaccinium myrtillus* ) and the Anthocyanins, 68–75. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12502387>
- Laguna, C. (2012). Correlación y regresión lineal, 1–18. Recuperado de <https://www.ugr.es/~batanero/documentos/TesisVera.pdf>
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/260264533\\_AOAC\\_200502\\_Total\\_Monomeric\\_Anthocyanin\\_Pigment\\_Content\\_of\\_Fruit\\_Juices\\_Beverages\\_Natural\\_Colorants\\_and\\_Wines-\\_pH\\_Differential\\_Method](https://www.researchgate.net/publication/260264533_AOAC_200502_Total_Monomeric_Anthocyanin_Pigment_Content_of_Fruit_Juices_Beverages_Natural_Colorants_and_Wines-_pH_Differential_Method)
- Londoño, J. (2007). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad, 129–162. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- López, H., & Guido, A. (2017). *Cultivo de la Pitahaya*. Recuperado de

<http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/guias/GUIA PITAHAYA 2014.pdf>

- López, L., & Villalta, A. (2009). Propuesta de un método para la elaboración de microesferas matriciales de ácido acetilsalicílico utilizando alginato de sodio por la técnica de gelificación iónica. Recuperado de <https://goo.gl/uSLZZ5>
- Luo, H., Cai, Y., Peng, Z., Liu, T., & Yang, S. (2014). Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya ( dragon fruit ) peel, 1–7. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24386928>
- Martínez, S., & Culebras, J. (2002). Flavonoids: Properties and antioxidant action. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/10961859\\_Flavonoids\\_Properties\\_and\\_antioxidizing\\_action](https://www.researchgate.net/publication/10961859_Flavonoids_Properties_and_antioxidizing_action)
- Mondragón, P. (2000). *Espectroscopia de infrarrojo*. Recuperado de [https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion\\_5a43b7c09fdc1.pdf](https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a43b7c09fdc1.pdf)
- National Institutes of Health. (2012). *Vitamina C*. Recuperado de <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/VitaminC-DatosEnEspañol.pdf>
- Organización Mundial de la Salud, O. (2018). Enfermedades no transmisibles. Recuperado de <http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Ortíz, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/283361581\\_Propiedades\\_funcionales\\_de\\_las\\_antocianinas](https://www.researchgate.net/publication/283361581_Propiedades_funcionales_de_las_antocianinas)
- Parra, A. (2011). Revisión : Microencapsulación de Alimentos, 63(2). Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a20v63n01.pdf>
- Pasin, B. L., Azón, C. G., & Garriga, A. M. (2012). Microencapsulation in alginate for food . Technologies and applications, 3(1), 130–151. Recuperado de [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/alginatos\\_en\\_alimentos.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/alginatos_en_alimentos.pdf)
- Ramos, E. (2019). *Extracción y Microencapsulación de antocianinas a partir de col morada (Brassica oleracea L.)*. Recuperado de [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29999/1/BQ\\_192.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29999/1/BQ_192.pdf)
- Reddy, K. R. (2014). Controlled Release, Pegylation, Liposomal Formulations: New

- Mechanisms in the Delivery of Injectable Drugs, 34. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10928404>
- Ricalde, F., & Andrade, L. (2009). Pitahaya una delicia tropical, 36–43. Recuperado de [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/60\\_3/PDF/05-488-La-pitahaya.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/60_3/PDF/05-488-La-pitahaya.pdf)
- Rodríguez, M., & Martínez, M. (2002). FAMILIA DE GLUTAREDOXINAS MONOTIÓLICAS EN LA LEVADURA *Saccharomyces unda* Recuperado de <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8077/Tmrm01de04.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sembiring, E. N., Elya, B., Sauriasari, R., Sembiring, E. N., Elya, B., & Sauriasari, R. (2018). Phytochemical Screening , Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia bonduc* ( L .) Roxb, *10*(1), 123–127.
- Suh, H., & Rodríguez, E. (2017). Determinación del pH y Contenido Total de Azúcares de Varias Bebidas No Alcohólicas : su Relación con Erosión y Caries Dental, 18–30.
- Suh, Lee, S., Heo, D., Kim, Y., Cho, S., Lee, S., & Lee, C. (2014). Metabolite Profiling of Red and White Pitayas ( *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* ) for Comparing Betalain Biosynthesis and Antioxidant Activity. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25101804>
- Troncoso, A., Fernández, M., Villaño, D., & Garcia, M. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo ., (June). Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/262704807\\_Revision\\_de\\_los\\_metodos\\_de\\_evaluacion\\_de\\_la\\_actividad\\_antioxidante\\_in\\_vitro\\_del\\_vino\\_y\\_valoracion\\_de\\_sus\\_efectos\\_in\\_vivo](https://www.researchgate.net/publication/262704807_Revision_de_los_metodos_de_evaluacion_de_la_actividad_antioxidante_in_vitro_del_vino_y_valoracion_de_sus_efectos_in_vivo)
- Vera, O. (2015). Compresión de conceptos elementales el análisis de varianza. Recuperado de <https://www.ugr.es/~batanero/documentos/TesisVera.pdf>
- Vital, P., & Larralde, C. (2016). Respuestas metabólicas al estrés de levaduras de importancia industrial. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (67), 86–91. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/674/67446178012.pdf>
- Wu, X., Wang, Y., Huang, X.-J., Fan, C.-L., Wang, G.-C., Zhang, X.-Q., ... Cai, W.

(2011). Three new glycosides from *Hylocereus undatus*, (October 2014), 37–41.  
<https://doi.org/10.1080/10286020.2011.586944>

### Anexo 1. Material vegetal seco



### Anexo 2. Valores medidos para la extracción

Relación (mv-vd)	Tiempo (min)	Peso (g)	Volumen (ml)
1:20	60	2,5039	50
1:20	60	2,5003	50
1:20	60	2,5071	50
1:25	60	2,0005	50
1:25	60	2,0010	50
1:25	60	2,0004	50
1:20	120	2,5009	50
1:20	120	2,5005	50
1:20	120	2,5005	50
1:25	120	2,0003	50
1:25	120	2,0007	50
1:25	120	2,0067	50

### Anexo 3. Absorbancias medidas a distintas longitudes de onda

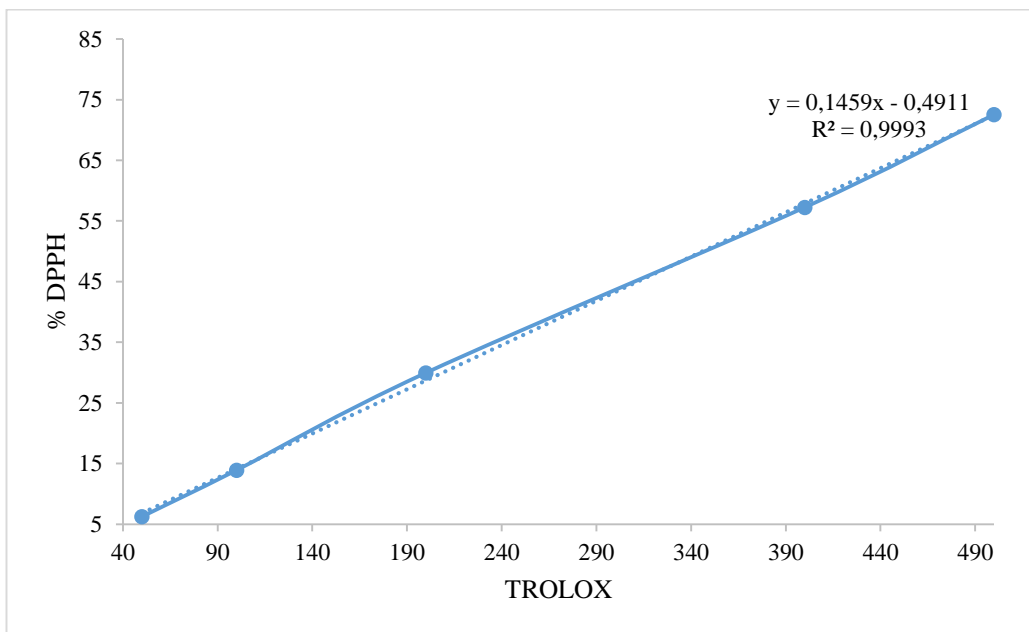


<b>Absorbancia a pH 1</b>		<b>Absorbancia a pH 4,5</b>	
<b>510nm</b>	<b>700nm</b>	<b>510nm</b>	<b>700nm</b>
1,981	1,215	2,193	1,765
1,154	0,511	1,120	0,814
1,974	1,218	1,908	1,556
0,497	0,190	0,800	0,641
0,610	0,248	0,385	0,201
1,625	1,023	1,535	1,094
1,561	0,829	0,756	0,374
1,498	0,714	1,324	0,857
1,665	0,922	1,461	1,033
1,174	0,486	0,854	0,605
1,624	0,864	1,045	0,726
1,584	0,876	1,025	0,786

**Anexo 4.**Diferencia de absorbancias y cálculo de concentración de antocianinas

<b>Diferencia de pH</b>		<b>A</b>	<b>CA(mg/g)</b>
<b>pH 1 (510nm-700nm)</b>	<b>pH 4,5(510nm-700nm)</b>		
0,766	0,428	0,338	5,644
0,643	0,306	0,337	5,628
0,756	0,352	0,404	6,746
0,307	0,159	0,148	2,471
0,362	0,184	0,178	2,972
0,602	0,441	0,161	2,689
0,732	0,382	0,350	5,845
0,784	0,467	0,317	5,294
0,743	0,428	0,315	5,260
0,688	0,249	0,439	7,331
0,760	0,319	0,441	7,364
0,708	0,239	0,469	7,832

## Anexo 5. Curva de calibración del Trolox



## Anexo 6. Datos de crecimiento de *S. cerevisiae* frente a estrés oxidativo

Tiem po (min)	Microencap. con maltodextrina (25mg/ml)-Peróxido 3mM	Microencap. con goma arábiga (25mg/ml)-Peróxido 3mM	Vitamina C (25mg/ml)-Peróxido 3mM	Levadura con peróxido 3mM	Levadur a sin tratamie nto
0	0,242	0,227	0,250	0,203	0,241
20	0,242	0,228	0,251	0,201	0,243
40	0,242	0,227	0,253	0,203	0,242
60	0,242	0,227	0,251	0,204	0,242
80	0,242	0,227	0,251	0,203	0,243
100	0,243	0,230	0,251	0,203	0,242
120	0,243	0,232	0,255	0,205	0,242
140	0,247	0,233	0,265	0,205	0,242
160	0,257	0,235	0,295	0,206	0,245
180	0,268	0,235	0,335	0,205	0,247
200	0,294	0,236	0,377	0,207	0,250
220	0,320	0,238	0,445	0,208	0,255
240	0,355	0,240	0,496	0,207	0,263

<b>260</b>	0,398	0,254	0,559	0,208	0,274
<b>280</b>	0,458	0,286	0,602	0,208	0,289
<b>300</b>	0,498	0,329	0,640	0,209	0,307
<b>320</b>	0,553	0,377	0,672	0,209	0,331
<b>340</b>	0,604	0,431	0,734	0,210	0,358
<b>360</b>	0,659	0,492	0,785	0,212	0,390
<b>380</b>	0,715	0,559	0,880	0,211	0,430
<b>400</b>	0,770	0,631	0,929	0,212	0,475
<b>420</b>	0,826	0,700	0,983	0,213	0,525
<b>440</b>	0,879	0,767	1,038	0,224	0,580
<b>460</b>	0,925	0,832	1,094	0,230	0,637
<b>480</b>	0,975	0,888	1,155	0,240	0,694
<b>500</b>	1,023	0,938	1,211	0,254	0,749
<b>520</b>	1,070	0,990	1,258	0,268	0,803
<b>540</b>	1,117	1,037	1,305	0,280	0,851
<b>560</b>	1,154	1,073	1,354	0,292	0,899
<b>580</b>	1,181	1,100	1,392	0,304	0,944
<b>600</b>	1,206	1,119	1,424	0,316	0,987
<b>620</b>	1,223	1,135	1,447	0,338	1,022
<b>640</b>	1,238	1,147	1,465	0,350	1,059
<b>660</b>	1,251	1,155	1,478	0,362	1,094
<b>680</b>	1,260	1,161	1,488	0,374	1,109
<b>700</b>	1,262	1,166	1,496	0,386	1,122
<b>720</b>	1,264	1,170	1,502	0,398	1,130
<b>740</b>	1,266	1,170	1,506	0,428	1,135
<b>760</b>	1,269	1,173	1,509	0,458	1,141
<b>780</b>	1,271	1,175	1,510	0,488	1,146
<b>800</b>	1,271	1,175	1,512	0,518	1,150
<b>820</b>	1,271	1,176	1,514	0,563	1,150
<b>840</b>	1,271	1,176	1,514	0,608	1,153
<b>860</b>	1,273	1,177	1,515	0,653	1,155
<b>880</b>	1,275	1,177	1,515	0,698	1,155
<b>900</b>	1,274	1,176	1,515	0,743	1,156
<b>920</b>	1,274	1,176	1,516	0,788	1,156
<b>940</b>	1,274	1,177	1,516	0,823	1,157
<b>960</b>	1,274	1,176	1,517	0,843	1,157
<b>980</b>	1,275	1,177	1,517	0,863	1,156
<b>1000</b>	1,276	1,178	1,516	0,883	1,156

<b>1020</b>	1,276	1,177	1,516	0,896	1,157
<b>1040</b>	1,276	1,177	1,516	0,909	1,156
<b>1060</b>	1,277	1,177	1,517	0,915	1,157
<b>1080</b>	1,278	1,178	1,517	0,921	1,158
<b>1100</b>	1,276	1,176	1,518	0,927	1,157
<b>1120</b>	1,277	1,177	1,518	0,929	1,157
<b>1140</b>	1,277	1,177	1,517	0,931	1,157
<b>1160</b>	1,279	1,177	1,517	0,933	1,158
<b>1180</b>	1,281	1,178	1,518	0,935	1,156
<b>1200</b>	1,283	1,178	1,516	0,936	1,157
<b>1220</b>	1,282	1,178	1,516	0,937	1,157
<b>1240</b>	1,282	1,178	1,516	0,938	1,157
<b>1260</b>	1,283	1,178	1,517	0,939	1,158
<b>1280</b>	1,282	1,179	1,517	0,938	1,158
<b>1300</b>	1,284	1,178	1,518	0,939	1,158
<b>1320</b>	1,284	1,178	1,518	0,940	1,158
<b>1340</b>	1,283	1,178	1,517	0,940	1,158
<b>1360</b>	1,284	1,179	1,517	0,941	1,159
<b>1380</b>	1,286	1,179	1,518	0,941	1,159