



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y

BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

“Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de la planta sangorache
(*Amaranthus quitensis*)”

Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, presentado como requisito previo a 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.

Autor: Angela Guadalupe Riera Muñoz

Tutor: PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador

Agosto – 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.

Ambato, 03 de junio del 2020



PhD. Orestes Darío López Hernández

C.I 1754784864

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Angela Guadalupe Riera Muñoz 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.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'AR' with a flourish.

Angela Guadalupe Riera Muñoz

C.I 050348897-5

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:



Firmado electrónicamente por:
**LILIANA PAULINA
LALALEO CORDOVA**

Presidente del Tribunal

Firmado digitalmente por
**JEANETTE VERONICA
CARRERA CEVALLOS**
Fecha: 2020.09.10 09:03:56
-05'00'

Mg. Jeanette Verónica Carrera Cevallos

CI: 1716192271

Firmado digitalmente por LANDER VINICIO PEREZ
ALDAS
Nombre de organización: CING S.A.S.
CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
Fecha: 2020/09/08 12:17:06 -0500

**LANDER VINICIO
PEREZ ALDAS**

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

CI: 1802706596

Ambato, 07 de septiembre del 2020

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso 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 los derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'AG', enclosed within a circular scribble.

Angela Guadalupe Riera Muñoz

C.I 050348897-5

AUTORA

DEDICATORIA

El proyecto de investigación le dedico a mi motivación más grande para concluir con éxito el trabajo, mi hermano, Jorgito Marcelo Riera Muñoz la persona más importante en mi vida ya que anhelo verle triunfando inclusive siendo mejor que yo. Por su afecto y cariño que siempre van hacer los detonantes de mi felicidad.

A mi madre le dedico el trabajo por siempre darme ánimos para seguir y nunca caer ya que juntas luchamos por conseguirlo y esto es poco para todo lo que ella se merece.

Los amo

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a mi Padre Celestial el forjador de mi camino que siempre me acompaña y me levanta de mis tropiezos, Dios la bondad y tu amor no tienen fin.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología y todos los catedráticos que impartieron sus conocimientos a lo largo del proceso de mi formación académica. Mi reconocimiento a cada uno por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

Un agradecimiento especial al PhD. Orestes López Hernández principal colaborador del proyecto de investigación quien con su guía, conocimiento y enseñanza permitió el desarrollo de este trabajo.

Gracias a mi madre Marivel Muñoz quien ha sido mi ente de vida, mi fortaleza y por quien hoy en día estoy cumpliendo un sueño, por ella soy lo que soy.

También quiero agradecerle a mi hermano Jorgito Marcelo por su paciencia en todos los momentos y mi fuerza para que pueda seguir avanzando en este camino.

A Lupita Cisneros y Ángel Bonilla por ser mis segundos padres apoyarme y guiarme siempre en cada paso que doy, a mis ñaños Geovany, Pablo, Carlos Andrés, Angelo y Esteban Bonilla por estar siempre en los buenos y malos momentos y a mi abuelito Jorge Riera por demostrarme un amor sincero.

Finalmente, le agradezco a Esteban Rubio por alentarme siempre a ser mejor persona y profesional por ser un gran amigo, a Christian Moya por el cariño sincero y el apoyo brindado y Estefanía Reinoso por ser mi mano derecha durante todo este tiempo y compartir grandes momentos.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

PORTADA	i
APROVACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
INDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	xi
INDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN EJECUTIVO.....	xiii
ABSTRACT	xiv

CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes Investigativos	1
1.1.1 Descripción de la planta sangorache (<i>Amaranthus quitensis</i>)	1
1.1.1.1 Generalidades.....	1
1.1.1.2 Origen.....	1
1.1.1.3 Clasificación botánica	2
1.1.1.4 Descripción botánica.....	3
1.1.1.5 Composición química y valor nutricional	3
1.1.1.6 Compuestos fitoquímicos de sangorache (<i>Amaranthus quitensis</i>)	6

1.1.2	Antocianinas	6
1.1.2.1	Generalidades.....	6
1.1.2.2	Estructura química 	7
1.1.2.3	Propiedades fisicoquímicas y espectros de absorción	7
1.1.2.4	Clasificación de antocianinas.....	8
1.1.2.5	Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas	8
1.1.2.6	Importancia de las antocianinas	9
1.1.2.7	Extracción de antocianinas.....	10
1.1.3	Actividad Antioxidante.....	11
1.1.4	Microencapsulación	11
1.1.4.1	Generalidades de la microencapsulación	11
1.1.4.2	Diseño de microesferas	12
1.1.4.3	Aplicaciones de la microencapsulación en productos vegetales.....	13
1.2	Objetivos.....	14
CAPÍTULO II.....		15
METODOLOGÍA.....		15
2.1	Materiales	15
2.1.1	Materiales de Laboratorio.....	15
2.1.2	Equipos	16
2.1.3	Reactivos	17
2.2	Métodos.....	17
2.2.1	Trabajo de campo	17
2.2.1.1	Recolección de la planta	17
2.2.2	Trabajo de Laboratorio	17
2.2.2.1	Preparación del material vegetal.....	17
2.2.2.2	Obtención de extractos vegetales líquidos.....	18
2.2.2.3	Determinación de sólidos totales	18

2.2.2.4 Análisis por espectrofotometría para determinar la concentración de antocianinas	18
2.2.2.5 Microencapsulación mediante secado por aspersión	19
2.2.2.6 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR	20
2.2.2.7 Determinación de la eficiencia de la encapsulación	20
2.2.2.8 Evaluación de la actividad antioxidante	20
2.3 Procesamiento y análisis.....	23
2.3.1 Prueba de múltiples rangos	23
2.3.2 Statgraphics.....	24
CAPITULO III.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1 Determinación del mejor disolvente para le extracción de antocianinas	25
3.2 Microencapsulación de antocianinas	27
3.3 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR	28
3.4 Evaluación de la actividad antioxidante	30
3.4.1 Capacidad antioxidante mediante el método de DPPH (<i>In vitro</i>)	30
3.4.2 Actividad antioxidante con un sistema vivo de células (<i>In vivo</i>) con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
CAPITULO IV.....	37
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXOS.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación Taxonómica de la planta sangorache.....	2
Tabla 2. Componentes del grano de sangorache.....	3
Tabla 3. Componentes de las hojas de sangorache	4
Tabla 4. Contenido de aminoácidos de cereales (g en 100g de muestra)	5
Tabla 5. Métodos de extracción de antocianinas	11
Tabla 6. Materiales para el proceso experimental	15
Tabla 7. Material de vidrio para el proceso experimental	15
Tabla 8. Equipos para el proceso experimental	16
Tabla 9. Datos para el análisis estadístico	23
Tabla 10. Distribución de tratamientos.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de sangorache (<i>Amaranthus quitensis</i>).....	2
Figura 2. Estructura de las Antocianinas	7
Figura 3. Estructura básica y sustituyentes de las antocianinas	8
Figura 4. Diagrama de cajas y bigotes estandarizado de la influencia de disolventes en la extracción de antocianinas de sangorache.	26
Figura 5. Comparación de las eficiencias de los dos microencapsulados	28
Figura 6. Espectrofotometría infrarroja FT-IR para comprobar la eficiencia de microencapsulación de antocianinas de sangorache.	29
Figura 7. Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antioxidante in vitro del concentrado de antocianinas, microencapsulación con maltodextrina y microencapsulación con la combinación de los polímeros.....	31
Figura 8. Curvas de crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> frente a un estrés oxidativo inducido por el peróxido de hidrógeno 3 mmol/l, vitamina C como control positivo y la levadura sin la adición de un agente antioxidante como control negativo.	34

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Datos de la extracción de antocianinas de sangorache con diferentes tratamientos.....	49
Anexo 2. Condiciones de la microencapsulación de antocianinas	50
Anexo 3. Análisis de varianza de las eficiencias de microencapsulación	51
Anexo 4. Rangos espectrales del análisis infrarrojo del extracto de antocianinas	52
Anexo 5. Análisis Anova de la actividad antioxidante mediante DPPH (<i>In vitro</i>)	53
Anexo 6. Curva de calibración del porcentaje de inhibición frente a las μmol de Trolox	54
Anexo 7. Absorbancia de cada tratamiento para pruebas <i>in vivo</i> con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	55

RESUMEN EJECUTIVO

Las antocianinas son pigmentos vegetales muy estudiados gracias a sus beneficios viables para la salud por su capacidad antioxidante y su uso como colorante natural en la industria alimentaria. Este trabajo de investigación consistió en la extracción sólido líquido de antocianinas de sangorache utilizando agua como disolvente principal a condiciones óptimas específicas. Sangorache (*Amaranthus quitensis*) es una planta ancestral cultivada en la zona andina de la Sierra Ecuatoriana conocida por su fuente incalculable de nutrientes, especialmente de hierro y calcio, además de ser considerado antioxidante. Para proteger las sustancias bioactivas extraídas se realizó la microencapsulación mediante secado por aspersión con dos tipos de matrices poliméricas (maltodextrina y la mezcla de maltodextrina con gomo arábigo) en donde la eficiencia máxima de las microesferas se analizó por las medias de concentración y un estudio de espectrofotometría infrarroja resultando que, la maltodextrina fue el mejor polímero para cubrir y proteger las antocianinas a un 92,30 por ciento máximo de eficiencia. Las propiedades antioxidantes fueron corroboradas mediante ensayos *in vitro* por DPPH analizando la capacidad de inhibición de cada muestra obteniendo una respuesta de (306,56 micromol equivalentes de Trolox sobre gramo de extracto seco) correspondiente a las antocianinas encapsuladas con maltodextrina mientras que, la capacidad antioxidante *in vivo* se evaluó a través de la inducción de estrés oxidativo celular a *S. cerevisiae* con peróxido de hidrógeno este proceso confirmó que las microesferas de antocianinas de sangorache presentan alta capacidad antioxidante incluso mejor que la vitamina c que se utilizó como agente de control.

Palabras claves sugeridas: Microencapsulación, antocianinas, sangorache, pigmentos vegetales, actividad antioxidante.

ABSTRACT

Anthocyanins are one of the most studied plant pigments thanks to their viable health benefits due to their antioxidant capacity and their use as a natural dye in the food industry. This research work consisted of the solid liquid extraction of anthocyanins from sangorache using water as the main solvent at specific optimal conditions. *Amaranthus quitensis* is an ancestral plant grown in the Andean area of the Ecuadorian Sierra known for its incalculable source of nutrients, especially iron and calcium, in addition to being considered an antioxidant. To protect the extracted bioactive substances, the microencapsulation process was carried out by spray drying with two types of polymeric matrices (maltodextrin and the mixture of maltodextrin with gum arabic) where the maximum efficiency of the microspheres was analyzed by means of concentration and an infrared spectrophotometry study resulting in maltodextrin as the best polymer to cover and protect anthocyanins at 92.30 percent efficiency. The antioxidant properties were corroborated by *in vitro* tests by DPPH analyzing the inhibitory capacity of each sample obtaining a maximum response (306.56 micromole equivalent of Trolox on gram dry extract) corresponding to the anthocyanins encapsulated with maltodextrin while, the antioxidant capacity *In vivo*, the process was confirmed by induction of cellular oxidative stress to *S. cerevisiae* with hydrogen peroxide. This process confirmed that sangorache's anthocyanin microspheres have a high antioxidant capacity even better than the vitamin C used as a control agent.

Suggested key words: Microencapsulation, anthocyanins, sangorache, vegetables pigments, antioxidant activity.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

1.1.1 Descripción de la planta sangorache (*Amaranthus quitensis*)

1.1.1.1 Generalidades

El sangorache corresponde a la familia de las Amaranthaceas y género *Amaranthus*; se la consideraba como parte principal de los productos para la alimentación de las culturas de América especialmente para los Mayas, Aztecas e Incas por su extensa fuente de proteínas, balance apropiado de aminoácidos esenciales en las hojas y semillas, además, de la presencia de metionina, lisina, leucina y fácil adaptación a condiciones climáticas (Tanquina, 2013). Hoy en día se cultiva aisladamente en la sierra ecuatoriana ya que su uso ha sido muy limitado y en varias localidades se ha perdido totalmente.

Desde la década de 1980 es utilizada por su valor nutritivo y adaptación a diferentes ambientes en los cuales se incluyen áreas desfavorables para otros cultivos de interés; se considera también eficiente por su alta fijación de anhídrido carbónico (Guapi, 2014).

1.1.1.2 Origen

Se ha identificado más de 70 especies del género *Amaranthus* de las cuales en su mayoría proceden de América y pocas en Europa, Asia, África y Australia cuyas características varían de acuerdo al lugar en donde se desarrollan; en la región Andina las especies originarias son *Amaranthus quitensis* y *Amaranthus hybridus* (Peralta, 2008).

El sangorache es conocido con diferentes nombres, propios del lugar donde se origina o se consume por ejemplo en Perú es kiwicha, achita, coyo, achis; en México alegría y huanthi en otro país como Bolivia se conoce como coimi, millmi e inca pachaqui o grano inca y en Ecuador es el ataco o quinua de castilla (Gómez, 2013).

1.1.1.3 Clasificación botánica

Tabla 1. Identificación Taxonómica de la planta sangorache

REINO	VEGETAL
División	Fanerógama
Tipo	Embryophyta siphonogama
Subtipo	Angiosperma
Clase	Dicoltilédónea
Subclase	Archyclamideae
Orden	Centropermales
Familia	Amaranthaceae
Género	Amaranthus
Especie	<i>A. hybridus</i> / <i>A. quitensis</i>
Nombre Científico	<i>Amaranthus hybridus</i> - <i>Amaranthus quitensis</i>

Fuente: (Salazar, 2015)



Figura 1. Planta de sangorache (*Amaranthus quitensis*)

Fuente: (INIAP, 2002)

1.1.1.4 Descripción botánica

Es una planta de tipo arbustivo herbáceo, de color verde en el inicio del crecimiento y morado o púrpura a su madurez. El sangorache posee una raíz pivotante, con cuantiosas raíces secundarias y terciarias esta característica contribuye tolerar la falta de agua (**Jiménez, 2013**) mientras que, (**Peralta, 2010**) enfatiza que la raíz principal soporta el peso de la planta y las raíces secundarias pueden adquirir una consistencia leñosa la cual permite que la planta alcance extensiones considerables cuando el cultivo presenta una baja densidad.

El tallo es de color púrpura o morado de forma cilíndrica y angulosa el cual puede alcanzar una altura de 2 m y 4 cm de diámetro de base dependiendo de la densidad de la siembra. Las hojas son simples pueden ser alternas u opuestas con bordes ondulados; el tamaño de las hojas varía de 3 a 15 cm de largo y hasta 1,5 cm de ancho (**Peralta, 2009**). Su fruto es una cápsula pequeña que corresponde a un pixidio unilocular compuesto de un opérculo en la parte superior y una urna en la parte inferior esta característica provoca el descenso de las semillas (**INIAP, 2002**).

Las inflorescencias son axilares o terminales muy vistosas de color morado o púrpura intenso, (**Peralta, 2009**) indica que cuando se agrupan forman la panoja la cual puede llegar hasta 50 cm. Sus flores se encuentran en la inflorescencia y son unisexuales, pueden ser pistiladas o estaminadas. Los cinco estambres forman el androceo y el gineceo presenta ovario esférico con tres estigmas filiformes y pilosos (**Galarza, 2013**).

Su semilla es pequeña, lisa, redonda puede ser negra o púrpura, la mismas que se revientan a temperaturas muy altas, según (**Peralta, 2009**) el número de semillas por gramos es aproximadamente de 1800 las cuales cerca del 82 % son normales y el restante son inmaduras o mal formadas.

1.1.1.5 Composición química y valor nutricional

La composición química del sangorache es muy extensa e importante por contener vitaminas tales como A, B₁, B₂, B₃, C. Asimismo, aporta con proteínas, minerales, ácido fólico, calcio, hierro y fósforo (**Salinas et al., 2010**). La planta es rica en ácidos grasos poliinsaturados como omega-6, omega-3 y el escualeno, también presenta agentes antioxidantes como tocoferoles (alfa hasta delta) y tocotrienoles (**Herrera & Montenegro, 2012**).

Tabla 2. Componentes del grano de sangorache

COMPONENTE	CANTIDAD POR CADA 100 g DE MATERIA SECA
Proteína (g)	12,00 – 19,00
Carbohidratos (g)	66,17 – 71,80
Extracto etéreo (g)	6,10 – 8,10
Fibra (g)	3,50 – 9,30
Cenizas (g)	3,00 – 3,30
Calcio (mg)	130,00 – 164,00
Fósforo (mg)	455,00 – 530,00
Potasio (mg)	366,00 – 800,00
Vitamina C (mg)	1,50 – 4,00
Tiamina (mg)	0,07 – 0,25
Riboflavina (mg)	0,19 – 0,29
Niacina (mg)	1,15 – 1,45

Fuente: (INCAP & OPS, 2007)

Tabla 3. Componentes de las hojas de sangorache

COMPONENTE	CANTIDAD POR CADA 100g DE MATERIA SECA
Proteína (g)	2,72 – 3,50
Extracto etéreo (g)	0,50 – 0,55
Fibra cruda (g)	1,30 – 1,73
Carbohidratos	5,73 – 6,50
Cenizas (g)	2,54 – 2,60
Calcio (mg)	267,00 – 278,00
Fósforo (mg)	67,00 – 81,00
Hierro (mg)	3,90 – 6,34
Potasio (m)	411,00 – 420,00
Vitamina A (IU)	5170,00 – 6100,00
Tiamina (mg)	0,08 – 0,10
Riboflavina (mg)	0,16 – 0,18
Niacina (mg)	1,40 – 1,70
Vitamina C (mg)	80,00 – 96,00

Fuente: (INCAP & OPS, 2007)

Una proteína es completa biológicamente cuando presenta todos los aminoácidos esenciales ya sea en una cantidad superior o igual a la determinada para cada uno de los aminoácidos de una proteína patrón (Quispillo, 2013). En la tabla 4 se indica la calidad nutricional de sangorache ya que presenta en su mayoría los aminoácidos esenciales comparados con otro tipo de cereales.

Tabla 4. Contenido de aminoácidos de cereales (g en 100g de muestra)

AMINOÁCIDO	AMARANTO NEGRO ATACO	AMARANTO BLANCO ALEGRIA	QUINUA TUNKAHUAN	CHOCHO ANDINO
Ácido aspártico	1,23	1,17	1,18	4,59
Treonina	0,42	0,5	0,51	1,23
Serina	1,31	0,88	0,58	2,03
Ácido glutámico	2,15	2,67	2,14	10,93
Prolina	0,46	0,54	0,46	1,42
Glicina	1,76	1,26	1,82	1,77
Alanina	0,46	0,53	0,65	1,39
Cistina	0,05	0,12	0,08	0,19
Valina	0,61	0,56	0,64	1,49
Metionina	0,18	0,20	0,15	0,16
Isoleucina	0,46	0,51	0,52	1,82
Leucina	0,71	0,79	0,86	2,75
Tirosina	0,35	0,53	0,44	1,44
Fenil alanina	0,53	0,59	0,57	1,44
Histidina	0,37	0,39	0,39	1,06
Lisina	0,61	0,80	0,74	1,79
Arginina	1,04	1,27	0,80	3,04

Fuente: (Peralta, 2008)

El sangorache es considerado como una de las plantas más curativas debido a su composición química y gran valor nutricional (García, 2015) describe a la planta como medicinal por sus componentes ya que logran la curación o prevención de diversas enfermedades como: osteoporosis, obesidad, estreñimiento, diabetes mellitus incluso se

puede utilizar para la hipertensión y, además, es apto para celíacos por la ausencia de gluten.

1.1.1.6 Compuestos fitoquímicos de sangorache (*Amaranthus quitensis*)

Los elementos fitoquímicos están presentes en frutas, verduras, lácteos; los elementales son los terpenos, fenoles, tioles. El sangorache contiene algunos metabolitos secundarios, los principales compuestos determinados en esta planta son taninos, fenoles, ácido fítico y flavonoides (**Castañeda, 2015**).

Los flavonoides se encuentran en compuestos fenólicos cuya estructura está formada por quince carbonos distribuidos en tres anillos por lo cual mediante su estructura química se han clasificados en seis grupos tales como flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavanoles, flavanonas y antocianidinas (**Badui, 2006**).

1.1.2 Antocianinas

1.1.2.1 Generalidades

Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) pertenecen a un extenso e importante grupo de pigmentos no nitrogenados de la familia de los flavonoides vacuolares (**Badui, 2006**). Son de amplia distribución en la naturaleza además se las consideran uno de los elementos más representativos del grupo de los pigmentos hidrosolubles responsables de los colores rosa, rojo, púrpura y azul de la mayoría de flores, frutos y hojas en angiospermas; varias gimnospermas, helechos y ciertas briofitas (**Narváez, 2016**).

Por otra parte (**Ortiz, 2001**) las define como glucósidos de antocianidinas las misma que son más estables bajo la forma heterosídica que bajo la forma aglicona, en su estructura se encuentra una aglicona (flavilio o 2-fenilbenzopirilio), unida a una azúcar por un enlace glucosídico y también el ión flavilio que funciona como un catión.

(**Astrid, 2008**) muestra que las antocianinas poseen varias funciones como la atracción de polinizadores para la dispersión de semillas y además la protección contra los efectos de la radiación ultravioleta, contaminación viral y microbiana asimismo actúan como antioxidantes, fitoalexinas y juntos con otros flavonoides consiguen formar resistencia al ataque de insectos.

1.1.2.2 Estructura química

Un esqueleto de quince carbonos (C₆-C₃-C₆) forman la estructura química de las antocianinas los mismos que están ordenados en dos anillos bencénicos A (benzoil) y B (hidroxicinamoil) unidos por un anillo pirano que consta de tres átomos de carbono y uno de oxígeno; son derivados polihidroxi y polimetoxi glicosilados del catión 2-fenilbenzopirilio más conocido como catión flavilio que contiene ocho dobles enlaces conjugados (Narváez, 2016).

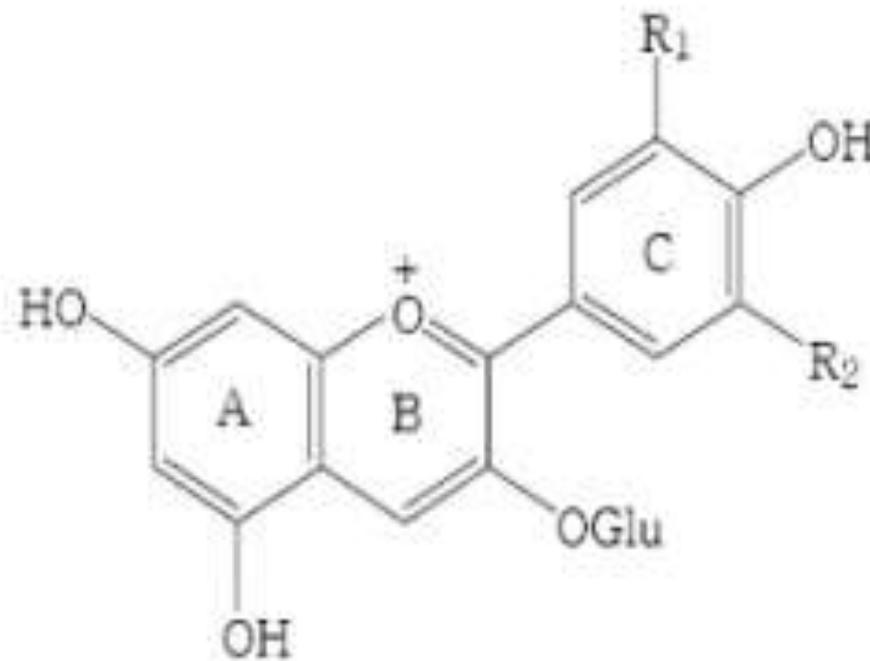


Figura 2. Estructura de las Antocianinas

Fuente: (Wrolstad, 2001)

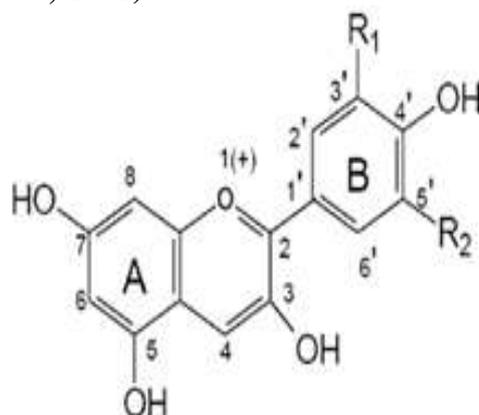
1.1.2.3 Propiedades fisicoquímicas y espectros de absorción

- **Espectro de absorción:** Los espectros de absorción se caracterizan por la presencia de dos bandas separadas en la región visible a los 465 y 550 nm las mismas que se determinan por la conjugación del anillo B y una banda en la región UV aproximadamente de 275 nm (Delgado et al, 2000).
- **Solubilidad:** Las antocianinas son insolubles en disolventes orgánicos apolares ya que presenta azúcares ricos en grupos OH que le confieren hidrofiliidad a las moléculas, por lo tanto, son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas (Narváez, 2016).

- **Capacidad antioxidante:** Son capaces de formar complejos con metales Fe^{3+} y Al^{3+} y actúan como agentes antioxidantes por ser sustancias fácilmente oxidables (Narváez, 2016).

1.1.2.4 Clasificación de antocianinas

La naturaleza posee una gran variedad de antocianinas por lo que las convierte en un grupo muy complejo; se han reportado alrededor de 635 antocianinas con diferentes estructuras base. (Sadilova, 2006) indica que las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C (carbonos). Las diferencias entre los antocianos se encuentran en el número de grupos hidroxilo de la molécula, el grado de metilación de los grupos hidroxilo (que son los factores que caracterizan a las diferentes antocianidinas), la naturaleza, el número de azúcares ligados a la molécula, su posición de unión y el número de ácidos alifáticos o aromáticos unidos a los azúcares en la molécula (Wrolstad, 2001).



Aglicona	Sustitución		λ_{max} (nm)
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	510 (naranja-rojo)
Cianidina	OH	H	522 (azul-rojo)
Delfinidina	OH	OH	520 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	505 (naranja)
Petunidina	OCH ₃	OH	532 (naranja-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	546 (azul-rojo)

Figura 3. Estructura básica y sustituyentes de las antocianinas

Fuente: (Wrolstad, 2001)

1.1.2.5 Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas presentan una baja estabilidad por diversos factores entre los cuales están: pH, temperatura, la luz durante su almacenamiento y procesamiento. Otros de los

factores es la presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración, y actividad del agua de la matriz (Cevallos et al., 2004).

- El efecto del pH afecta tanto en la estructura y estabilidad; la acidez posee un efecto protector con la molécula, en soluciones acuosas a valores de pH menores a dos se encuentra en su forma más estable (catión flavilio) de color rojo mientras que a pH superiores a 7 se muestran las formas quinoidales de color púrpura (Astrid, 2008).
- El efecto de la temperatura ocurre por dos mecanismos como la hidrólisis del enlace glucosídico mediante el cual se forma la aglicona y la ruptura hidrolítica que da la formación de chalcona (Timberlake, 1979).
- La luz acelera el proceso de degradación especialmente a las antocianinas que presentan sustituyentes en el hidroxilo de carbono 5 prima, aunque (Astrid, 2008) expresa que este factor también acelera la biosíntesis de las mismas.
- El efecto degradativo del oxígeno y el ácido ascórbico sobre la estabilidad de las antocianinas está relacionado, (Astrid, 2008) reporta que las condiciones que favorecen la oxidación aeróbica del ácido ascórbico causan grandes pérdidas de antocianinas, sin embargo, si se excluye el oxígeno del sistema este no presenta un deterioro de color. Este efecto ha sido explicado por (Garzón & Wrolstad, 2006) en el cual ocurre una reacción de condensación entre el ácido y los pigmentos.
- La concentración del pigmento y la actividad de agua de la matriz afectan la estabilidad del color (Astrid, 2008) demostró que si la concentración de antocianinas aumenta se presentan fenómenos de autoasociación entre dos cationes flavilio, dos formas hemiacetal, dos bases quinoidales, e inclusive, entre una base quinoidal y un catión flavilio protegiendo así a la molécula de antocianina. Por otra parte (Olaya, 2009) comparte que la actividad de agua del medio causa degradación por la interacción entre el agua y el catión flavilio produciendo una pseudobase inestable.

1.1.2.6 Importancia de las antocianinas

El interés por los pigmentos antocianos en investigaciones científicas se han incrementado en los últimos años, debido no sólo al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades

coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo; estos efectos preventivos y terapéuticos, están principalmente asociados con sus propiedades antioxidantes **(Astrid, 2008)**.

Existen numerosos estudios de los efectos benéficos de los pigmentos por lo cual se ve necesario incrementar el uso de los mismos en la dieta. **(Guerra, 2017)** indica que es muy importante buscar soluciones para la estabilización de antocianinas protegiéndolas frente a los factores adversarios como el pH, temperatura, luz entre otros aplicando nuevas tecnologías de estabilización como la encapsulación.

En la actualidad existe mucha investigación respecto a la actividad biológica sobre las antocianinas **(Ortiz et al., 2011)** afirman que toda la información sobre dicha actividad es muy relevante por lo cual se llega a la conclusión que los productos ricos en antocianinas poseen un efecto defensor sobre la salud humana sobre todo en enfermedades cardiovasculares y distintos tipos de cáncer. Sin embargo, **(Abdel-Aal & Hucl, 1999)** expresan que se necesita más estudios para establecer los alcances de las propiedades promotoras de la salud en antocianinas en nuevas plantas por ejemplo sangorache debido a la presencia de diversas propiedades que pueden ser total o parcialmente responsables de las actividades biológicas antes mencionadas.

1.1.2.7 Extracción de antocianinas

La extracción de pigmentos se debe llevar a cabo teniendo muy en cuenta los factores que afectan la estabilidad de los mismos ya que los resultados dependen del proceso de extracción. **(Hernández, 2016)** propone que las antocianinas son compuestos solubles en disolventes polares por lo cual se las extrae usando etanol, metanol, agua con bajas cantidades de ácido. **(Gutierrez et al., 2009)** indican que el ácido permite que el pH se mantenga ácido previniendo que se produzca el desplazamiento del equilibrio químico de hidratación y la formación de chalconas.

Para la extracción de antocianinas existen algunos métodos por lo cual se han realizado algunas investigaciones de las mismas buscando el mejor rendimiento, pero se han comprometido en cuestiones de seguridad.

Tabla 5. Métodos de extracción de antocianinas

MÉTODO	CARACTERÍSTICAS
Ácido clorhídrico en metanol	Es un método muy efectivo pero el HCl es corrosivo y metanol al ser tóxico puede provocar efectos dañinos en la salud humana
Ácido clorhídrico en etanol	Efectivo como el metanol
Ácido clorhídrico en agua	Tan efectivo como el metanol, pero no tóxico
Metanol acidificado con ácido cítrico	Es considerado como el método más eficiente de los ácidos orgánicos
Agua con dióxido de azufre	Es un sistema de mejor obtención en el cual se aplica sistemas de etanol, ácido acético y agua

Fuente: (Hernández 2016)

1.1.3 Actividad Antioxidante

Los compuestos con propiedades antioxidantes son sustancias que neutralizan los radicales libres y disminuyen el daño oxidativo (Narváez, 2016). El poder antioxidante de las antocianinas se da por su capacidad de capturar especies reactivas de oxígeno incluyendo radicales libres, radicales de oxígeno y peróxido mediante un proceso de donación de electrones o de átomos de hidrógeno fenólicos (Castañeda et al., 2008) así las reacciones en cadena responsables del daño oxidativo en las células se interrumpen por lo cual, las posibilidades de desarrollar enfermedades cardiovasculares y neuronales, procesos inflamatorios, enfermedades degenerativas tales como el cáncer y el envejecimiento celular inducido por estrés oxidativo se reducen tal como lo explica (He & Giusti, 2010).

1.1.4 Microencapsulación

1.1.4.1 Generalidades de la microencapsulación

La encapsulación consiste en el aislamiento de una sustancia activa para la obtención de productos en tamaño micrométrico con propiedades específicas. (Luna et al., 2016) propone que la técnica puede ser aplicada para promover la resistencia de los materiales

alimentos en su procesamiento y empaque para mejorar el sabor, aroma, estabilidad y sobre todo su valor nutritivo para así proteger sustancias sensibles al medio ambiente.

Las propiedades de liberación de la técnica de microencapsulación dependen del contenido de las partículas presentes, solubilidad, pH, rompimiento o la acción enzimática (Lee et al., 2003). La técnica de microencapsulado posee aplicaciones muy importantes en la industria alimenticia ya que puede mejorar las propiedades y características de los ingredientes con la adición de agentes microbianos o mediante la inmovilización de los ingredientes (Luna et al., 2016).

Los procesos de microencapsulación dependen del tamaño, la biodegradación, biocompatibilidad que se requiera en la partícula (Nunes & Mercadante, 2007) enlista algunos de los métodos entre los cuales está el secado por aspersión, la aspersión con enfriamiento, el lecho fluidizado, la coacervación- separación de fase, la polimerización interfacial, la polimerización de la emulsión y la extrusión.

1.1.4.1.1 Método de microencapsulación en secado por aspersión

El secado por aspersión es una operación unitaria mediante la cual un producto líquido es atomizado en una corriente de gas caliente para obtener un polvo instantáneamente, el gas generalmente usado es aire y muy ocasionalmente un gas inerte como nitrógeno (Souza, 2018).

Se considera eficiente la microencapsulación cuando se alcanza una máxima cantidad de material núcleo dentro de las partículas de polvo, una buena estabilidad de las microesferas, prevención de pérdida de compuestos volátiles, y una extensión de la vida útil del producto (Esquivel et al, 2015).

La ventaja del uso de esta técnica reside en el tiempo corto para la producción, la factibilidad económica y el uso de bajas temperaturas lo cual es un parámetro influyente para los productos sensibles al calor, debido a que causa una alta retención de sabor, color y nutrientes (Ferrari et al, 2012).

1.1.4.2 Diseño de microesferas

Para el diseño de microesferas se puede seleccionar una amplia variedad de polímeros ya sean naturales o sintéticos lo cual va a depender de las particularidades deseadas en la microencapsulación o del material a recubrir siendo muy importante su elección para la estabilidad y eficiencia de la misma. (Nesterenko et al., 2013).

Las características del encapsulante ideal deben proveer propiedades emulsificantes, biodegradables y sobre todo tener la capacidad para sellar y mantener el núcleo en el interior de la cápsula (**Dubey et al., 2009**). La mayoría de los materiales de la pared no tienen todas las propiedades mencionadas por ello, es usual mezclar dos o más materiales tales como carbohidratos: almidones, dextrinas, sacarosa, celulosa, y quitosano; gomas como: goma arábiga, alginato y carragenina; lípidos: cera, parafina, monoglicéridos y diglicéridos, aceites hidrogenados y grasas; materiales hidrogenados: sulfato de calcio y silicatos; proteínas de gluten, caseína, gelatina, albúmina, entre otros (**Teixeira et al., 2014**).

1.1.4.3 Aplicaciones de la microencapsulación en productos vegetales

La técnica de microencapsulado ayuda en la protección de nutrientes y también beneficia en el mantenimiento de compuestos bioactivos o antioxidantes tanto frutas como en vegetales (**Dubey et al., 2009**), por lo que se han realizado algunos estudios para la conservación de los compuestos mencionadas.

Entre los diferentes estudios sobre la aplicación de la ME se encuentra desarrollado por (**Nunes et al., 2007**) logrando evaluar la estabilidad de antocianinas y la actividad antioxidante, los diferentes resultados de los microencapsulados estribaban de condiciones tales como temperatura de almacenamiento y actividad de agua de los polvos; mientras que, (**Arrazola et al., 2014**), analizaron pigmentos microencapsulados de antocianinas, mediante el secado por aspersion con 30 % de maltodextrina, en los cuales se mostraron propiedades fisicoquímicas de alta eficiencia, con menores contenidos de humedad y mayores porcentajes de solubilidad.

La técnica de microencapsulación permite que los materiales alimenticios resistan mejor las condiciones de procesamiento y empaquetado debido a su gran capacidad de mantenimiento tanto del sabor, aroma, estabilidad y valor nutritivo por lo cual, se han llevado en la actualidad diferentes investigaciones utilizando nuevos encapsulantes (**Luna et al., 2016**). Sin embargo, es necesario seguir indagando sobre matrices encapsulantes y materiales de la pared, así como también mejorar los métodos ya existentes para incrementar la vida útil y aplicaciones de las microencapsulaciones. Por lo tanto, se plantea en la presente investigación la extracción y microencapsulación de antocianinas de sangorache (*Amaranthus quitensis*) utilizando diferentes polímeros

encapsulantes y a la vez la evaluación de la capacidad antioxidante *in vivo* e *in vitro* de los mismos.

1.2 Objetivos

Objetivo General

Extraer, microencapsular y demostrar la actividad antioxidante de las antocianinas presentes en las hojas y flores del sangorache (*Amaranthus quitensis*).

Objetivos Específicos

- Evaluar la eficiencia de diferentes disolventes para la extracción de las antocianinas del sangorache (*Amaranthus quitensis*).
- Microencapsular las antocianinas extraídas del sangorache (*Amaranthus quitensis*) mediante secado por aspersion utilizando diferentes matrices poliméricas.
- Determinar la eficiencia de microencapsulación de las microesferas de antocianinas del sangorache (*Amaranthus quitensis*).
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de las de las microesferas de antocianinas del sangorache (*Amaranthus quitensis*).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales

2.1.1 Materiales de Laboratorio

Durante el proceso experimental en el Laboratorio de Investigación (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología se requirió el uso de los siguientes materiales:

Tabla 6. Materiales para el proceso experimental

MATERIAL	CANTIDAD
Micropipeta de volumen variable	3 (2 a 10 μ l, de 20 a 200 μ l y de 100 a 1000 μ l)
Tubo falcon para centrífuga	6 (15 y 50 ml)
Tubos ependorff	6 (2 ml)
Pera de succión	1
Núcleo Magnético para agitación	3
Tampón de caucho con entrada para termómetro	3
Espátula	1

Tabla 7. Material de vidrio para el proceso experimental

MATERIAL	CANTIDAD
Matraz Erlenmeyer	3 (250, 500 y 1000 ml)
Termómetro	1 (-10 a 110 °C)
Probetas graduadas	2 (50 y 100 ml)
Frasco de cristal (Ámbar)	2 (50 y 100ml)
Placa de 96 pocillos para Espectrofotómetro	2
Varilla de agitación	3
Vaso de precipitación	3

2.1.2 Equipos

Para cada proceso se necesitó diferentes equipos como se describe en la tabla 8:

Tabla 8. Equipos para el proceso experimental

PROCESO	EQUIPO	MARCA
Deshidratación del material vegetal	Estufa	Gander MTN
Trituración del material vegetal	Molino manual	Corona
Pesar muestras	Balanza analítica	Ohaus PA214
Determinación de sólidos totales	Balanza de humedad	Mrc MB-50
Extracción de antocianinas	Plancha de calentamiento con agitación	Corning PC-620D
Medición de pH	pH metro	HANNA HI 2221
Escala mayor el extracto de antocianinas	Reactor	
Extracción del concentrado de antocianinas	Rotaevaporador	IKA-RV8
Microencapsulación	Mini spray dryer	BUCHI-B 290
Determinación de la concentración de antocianinas	Espectrofotómetro	UV-VIS (Fisherbrand™ accuSkan™ GO)
Determinación de grupos funcionales de las antocianinas, microencapsulado y matrices poliméricas	Espectrofotómetro infrarrojo FT-IR	Jasco FTIR-4000
Evaluación de la actividad antioxidante	Cámara de flujo laminar	JSR JSCB-900SL
	Agitador con control	New Brunswick Scientific
Análisis estadístico	Computadora	HP

2.1.3 Reactivos

Para la preparación de diferentes soluciones se requirieron algunos reactivos tales como: ácido clorhídrico, etanol (96%) para el disolvente en la extracción de antocianinas mientras que para la microencapsulación se empleó dos tipos de polímeros (maltodextrina y goma arábiga).

En la actividad antioxidante y eficiencia de la microencapsulación las sustancias utilizadas fueron agua oxigenada, etanol (70%), metanol (96%), agua oxigenada, tampón fosfato salino (PBS), reactivo DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Aldrich chemistry), Trolox 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid 97 % (Aldrich chemistry).

2.2 Métodos

2.2.1 Trabajo de campo

2.2.1.1 Recolección de la planta

Para la investigación se utilizó la planta de sangorache (*Amaranthus quitensis*), la misma que se adquirió en la ciudad de Ambato provincia de Tungurahua. Posteriormente la planta se trasladó a la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología específicamente a la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE-ICIA).

2.2.2 Trabajo de Laboratorio

2.2.2.1 Preparación del material vegetal

La investigación se realizó en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato en el laboratorio de Investigación, para tener un material de mucha calidad fue necesario lavar las plantas usando agua potable; cuando las plantas se secaron se procedió a desaojar ya que para la extracción de antocianinas solo se necesitó las hojas y flores. Después se cortaron y trituraron las inflorescencias en un procesador (Thermomix ®) con el objetivo de facilitar el secado de las plantas. Las hojas y flores se secaron con aire caliente en el horno secador (GanderMTN) durante 25 min a una temperatura de 50 a 60 °C. El material seco se almacenó en frascos de vidrio ámbar para evitar el contacto con la luz o la humedad.

2.2.2.2 Obtención de extractos vegetales líquidos

Se inició con la extracción de antocianinas con el material completamente seco en donde se analizó la eficiencia utilizando diferentes disolventes: etanol 96% con ácido clorhídrico 37% (relación 85:15) y agua; también fue necesario tomar en cuenta los siguientes factores: relación material vegetal con disolvente 1:20, temperatura 80 °C y tiempo 30 min.

Para la relación material vegetal con disolvente 1:20 se pesó 2 g de la muestra de vegetal en una balanza analítica (OhausPioneer) una vez pesado se mezcló la muestra con 50 ml de los dos tipos de disolvente por separado. A continuación, las muestras se almacenaron en matraces Erlenmeyer de marca PYREX recubiertos con tapones y papel aluminio para poder reducir la evaporación de disolvente. Para la obtención del extracto se procedió a colocar los matraces en una plancha de calentamiento (ThermoScientific) con el tiempo, temperatura establecida anteriormente y con agitación magnética de 400 min⁻¹ en este proceso fue necesario tomar el tiempo después de alcanzar la temperatura de ebullición en cada una de las muestras. Posteriormente, se separó los residuos sólidos del extracto líquido con una centrífuga (Rotina 380) a 300 min⁻¹ durante 10 min y finalmente, el precipitado fue desechado para conservar el sobrenadante en botellas de vidrio color ámbar en refrigeración a 4 °C para evitar la descomposición de las antocianinas.

2.2.2.3 Determinación de sólidos totales

Los sólidos totales se determinaron midiendo la humedad residual de cada extracto utilizando una balanza de humedad (Kern MLS 50-3) por triplicado cada una. Se calculó los sólidos totales extraídos (% SST) con la siguiente fórmula:

$$\% SST = 100 - \% humedad$$

Fórmula 1. Determinación de sólidos totales

2.2.2.4 Análisis por espectrofotometría para determinar la concentración de antocianinas

Para la determinación de la absorbancia de cada uno de los extractos se necesitó un espectrofotómetro (UV-VIS Fisher ScientificacuSkanGo) con un factor de dilución 1/50 para con el disolvente de etanol y 1/25 con agua, tomando en cuenta que el blanco

de este análisis fue etanol y agua para cada medida como corresponda. La longitud se determinó utilizando un barrido espectral con un rango de 300-800 nm lo cual permitió visualizar la variación de la absorbancia con la longitud de onda de radiación electromagnética permitiendo determinar la concentración de antocianinas del extracto. A continuación, para la determinación de la concentración de antocianinas en mg/ 100g se usó el modelo de (Abdel-Aal & Hucl, 1999).

$$C = \frac{A}{\varepsilon} \times \frac{vol}{1000} \times MW \times \frac{1}{sample\ wt} \times 10^6$$

Fórmula 2. Cuantificación de antocianinas

Donde:

C: Es la concentración de antocianinas mg/100g

A: Es la absorbancia

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

Vol: Volumen total del extracto de antocianinas

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

2.2.2.5 Microencapsulación mediante secado por aspersión

Para la microencapsulación primero se preparó a escala mayor el mejor ensayo realizado anteriormente tomando en cuenta las condiciones óptimas y el disolvente apropiado. Cuando se obtuvo el extracto fue muy necesario concentrarlo en un rotaevaporador (IKA HB10) a una temperatura de 70 °C y una velocidad de agitación de 150 min⁻¹; en donde la circulación de agua permaneció constante y conectada al vacío. Cuando ya se obtuvo la cantidad deseada del concentrado se midió el volumen y almacenó en refrigeración a 4 °C en frascos de vidrio ámbar. Seguidamente se preparó dos emulsiones para el proceso de microencapsulación tomando en cuenta el resultado de sólidos totales ya que con ello se calculó la cantidad necesaria de concentrado, matrices poliméricas (goma arábiga y maltodextrina) y agua destilada; las muestras se mezclaron constantemente a 45 °C. El proceso se realizó en un Mini Spray Dryer BUCHI-B290 mediante la alimentación con las emulsiones preparadas; para poder microencapsular las antocianinas se verificó que la presión del equipo sea la adecuada (-50 mbar), al igual que la temperatura de entrada 150 °C y salida 90 °C controlada por el flujo de agua y aire.

Cuando los parámetros ya fueron controlados se procedió con el secado donde el material encapsulante se solidificó sobre las partículas a medida que el disolvente se evaporó formándose así microesferas, cuando finalizó el proceso se dejó pasar agua hasta que el equipo llegue a una temperatura de 100 °C, también se cerraron los flujos de agua y aire para la recuperación de las antocianinas microencapsuladas.

2.2.2.6 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja FT-IR

El análisis se efectuó en el Laboratorio de Química Instrumental de la Facultad de Ciencias ubicada en la Escuela Politécnica de Chimborazo ESPOCH en donde se analizaron los microencapsulados, el concentrado de antocianinas y las matrices poliméricas en un espectroscopio infrarrojo Jasco FT/IR 4100.

2.2.2.7 Determinación de la eficiencia de la encapsulación

Se pesó 2,5 g de cada microencapsulado para mezclar con 15 ml de los disolventes, posteriormente se disolvió cada mezcla durante 15 min y se colocó en los pocillos de la placa del espectrofotómetro (Fisherbrand™ accuSkan™ GO) para leer la absorbancia de cada uno a 535 nm y con los datos obtenidos se calculó la concentración de cada muestra determinando la eficiencia del microencapsulado de antocianinas con la siguiente ecuación:

$$\text{Eficiencia de la encapsulación} = \frac{[\text{microencapsulado con disolvente}_1] - [\text{microencapsulado con disolvente}_2]}{[\text{microencapsulado con disolvente}_1]}$$

Fórmula 3. Eficiencia de la Microencapsulación

Donde:

Disolvente ₁: *Agua*

Disolvente ₂: *etanol*

2.2.2.8 Evaluación de la actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante se utilizó un método *in vitro* y otro *in vivo* como se describen a continuación.

- **Capacidad antioxidante mediante el método de DPPH (*In vitro*)**

Se determinó el potencial antioxidante del extracto mediante la técnica de DPPH descrita por (Bobo-García et al., 2015) la cual presenta un radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; el radical es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a

través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante.

Primeramente, se realizó una curva estándar de 100, 200, 400 y 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ del reactivo Trolox utilizando como disolvente una solución de metanol y agua relación 80:20 en volumen.

Para la medición de la actividad antioxidante se preparó una solución de 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ del radical libre estándar 2,2-difenil-1-picrilhidracilo después se realizó una dilución 1/50 del extracto concentrado de sangorache y en un tubo Eppendorf se diluyó 0,2 g de cada microencapsulado en 0,8 de agua destilada. Después se colocó en la placa de 96 pocillos el blanco (20 μl de agua destilada con 180 μl de la mezcla de metanol-agua), un control de referencia (20 μl de agua destilada con 180 μl de la solución preparada de DPPH), 20 μl de las muestras de microencapsulado preparadas previamente junto con 180 μl del reactivo DPPH y 20 μl de la dilución 1/10 del concentrado de capulí con 180 μl del reactivo DPPH. Al finalizar se leyó la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 517 nm.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó a través de la fórmula 4 en donde se colocaron los valores de absorbancia obtenidos anteriormente. Para poder comparar con la curva de Trolox se realizó también un gráfico de la inhibición y los resultados fueron expresados en μmol equivalentes de Trolox por cada gramo de extracto de la planta seco.

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right] * 100$$

Fórmula 4. Por ciento de inhibición de DPPH

Donde:

(A_m) es la absorbancia de cada microencapsulado y concentrado del extracto de sangorache

(A_b) la absorbancia del blanco reactivo

(A_c) la absorbancia de control.

- **Ensayo de estrés oxidativo sobre *Saccharomyces cerevisiae* (In vivo)**

La capacidad antioxidante de la microencapsulación de antocianinas de sangorache se utilizó la metodología sugerida por (Mera, 2018) en donde se requirió la utilización de *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo; a continuación, se describe el proceso.

1. Crecimiento celular de levaduras

Se utilizó una cepa de levaduras cultivadas de medio YPD con la siguiente composición: 2 g de levadura, 4 g de glucosa y peptona; los microorganismos se cultivaron a 28 °C con una agitación constante de 100 rpm durante toda la noche con el objetivo de promover el crecimiento celular. Consecutivamente se extendió en placas de agar YPD para incubar a 28 °C durante 72 horas para conseguir colonias aisladas de levadura.

2. Determinación de la capacidad antioxidante

La concentración adecuada de oxidante se determinó mediante la inoculación de una colonia aislada de *Saccharomyces cerevisiae* con 5 ml de líquido YPD lo cual se incubó con agitación constante a 40 min⁻¹ y durante 6 h a 28° C. También se realizó una dilución 1/10 del cultivo el cual se inoculó 5 µl con 3 ml de YPD al que se le añadió 1 ml del microencapsulado de diferentes concentraciones: 25 mg/ml (0,5 g de microencapsulado en 20 ml de agua destilada) y 50 mg/ml (1 g de microencapsulado en 20 ml de agua destilada) el tratamiento se incubó por 18 h a 28 °C con una agitación constante de 100 min⁻¹.

La vitamina C se analizó con diferentes concentraciones 25 mg/ml (0,5 g de vitamina C en 20 ml de agua destilada) y 50 mg/ml (1 g de vitamina C en 20 ml de agua destilada). Para poder tener la respuesta de la levadura con el antioxidante se inoculó en un tubo falcon 5 µl de la dilución 1/10 preparada anteriormente con 3 ml de YPD fresco y 1 ml de cada concentración de antioxidante por 28 h a una temperatura de crecimiento de 28 °C y 100 min⁻¹ de agitación, también se inoculó la levadura sola en el medio de cultivo para el control negativo.

Las células fueron resuspendidas en tampón fosfato (PBS) pH 7,4 mediante una centrifugación de 2700 min⁻¹ a 20 °C en un lapso de 10 min, a la vez se determinó la absorbancia a 600 nm con un espectrofotómetro UV-VIS hasta lograr en cada uno de

los tratamientos una absorbancia de 0,1. En la etapa de estrés oxidativo se emplearon diversas concentraciones de H₂O₂ en donde se añadió 1 ml de la solución a dos diferentes concentraciones 0,5 mmol/l y 3 mmol/l en cada tubo con concentraciones de microencapsulado y antioxidante, esto se incubó 1 h a 28 °C además se centrifugó a 2700 min⁻¹ por 20 min. Cuando el pellet de células se formó se resuspendió en 1 ml de medio YPD líquido en donde se analizó el crecimiento celular de la levadura, al final para determinar la capacidad antioxidante se colocó 200 µl de cada tratamiento de cultivo de levaduras, microencapsulado y levaduras en una placa de 96 pocillos de un espectrofotómetro (marca Fisherbrand™ accuSkan™ GO) en donde se controló el crecimiento celular durante 24 h a 30 °C y una agitación constante.

3. Análisis de la capacidad antioxidante

El efecto antioxidante de las microesferas de sangorache con las diferentes matrices poliméricas fue analizado mediante un gráfico de dispersión con el valor de la absorbancia medida a 600 nm, en donde se representó la relación entre el crecimiento y la capacidad de adaptarse la levadura a las diferentes condiciones con el tiempo de incubación del promotor del estrés oxidativo (peróxido de hidrógeno).

2.3 Procesamiento y análisis

2.3.1 Prueba de múltiples rangos

El análisis mediante la prueba de múltiples rangos estudió el comportamiento de los tratamientos mediante el análisis de la varianza en donde se determinó el mejor disolvente para la extracción de antocianinas de sangorache. En la tabla 9 se observa las combinaciones utilizadas para el análisis

Tabla 9. Datos para el análisis estadístico

FACTORES	NIVELES
A: Disolvente etanol con ácido clorhídrico	Relación 1:20 Tiempo: 30 min Temperatura: 80 °C
B: Disolvente agua	Relación 1:20 Tiempo: 30 min Temperatura: 80 °C

2.3.2 Statgraphics

Para el procesamiento de los datos en la determinación de la eficiencia de la encapsulación se utilizó un software estadístico Statgraphics Centurión versión XVII ya que está diseñado para facilitar el análisis estadístico de datos. Mediante su aplicación se realizó un análisis descriptivo de una o varias variables, utilizando gráficos de cajas y bigotes. En la tabla 10 se observa las combinaciones para realizar el análisis estadístico.

Tabla 10. Distribución de tratamientos

INTERACCIÓN	TRATAMIENTO	DISOLVENTE
T_1D_1	Relación 1:20, 30 min, Temperatura 80 °C, maltodextrina	Agua
T_2D_1	Relación 1:20, 30 min, Temperatura 80 °C, maltodextrina y goma arábica	Agua

Para los resultados de la actividad antiinflamatoria también se utilizaron gráficas de comparación utilizando el software antes mencionado.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación del mejor disolvente para la extracción de antocianinas

El proceso de extracción de antocianinas según (Zapata, 2014) debe tener una máxima eficiencia de los pigmentos con poca o nula degradación o alteración del estado natural de los mismos, para lo cual (Moreno, 2017) menciona que existe diferentes métodos de extracción y son también algunos de los factores que afectan a la estabilidad de los pigmentos. Por ello se realizan algunos trabajos de investigación sobre la influencia de los distintos factores entre los cuales está la temperatura, tiempo, pH, tipo de extracción y o, tipo de disolvente.

En la presente investigación se realizó la extracción sólido líquido de antocianinas a partir de hojas y flores de sangorache (*Amaranthus quitensis*) analizando específicamente que tipo de disolvente (agua o la mezcla de etanol 96 % y ácido clorhídrico en relación 85:15) sería el más influyente en la extracción.

A partir de lo anterior, cada una de las muestras se procesó en una prueba de múltiples rangos en el cual se estudió la diferencia que existía entre las medias de concentraciones de antocianinas con los tipos de disolventes. La variable de respuesta como se nombró anteriormente fue la concentración de antocianinas en cada uno de los extractos.

Inicialmente, se determinó la longitud de onda de máxima absorción de cada muestra (535 nm) utilizando un barrido espectral con un rango de 300-800 nm, esto permitió visualizar la variación de la absorbancia de cada uno de los tratamientos (Anexo 1). Según (Ortega, 2006) una longitud de onda de 535 nm corresponde a la antocianina cianidina 3-glucósido.

A continuación, en la figura 4 se muestra el diagrama de caja y bigotes el mismo que representó la medida de tendencias centrales y de dispersión en cuartiles de las muestras procesadas.

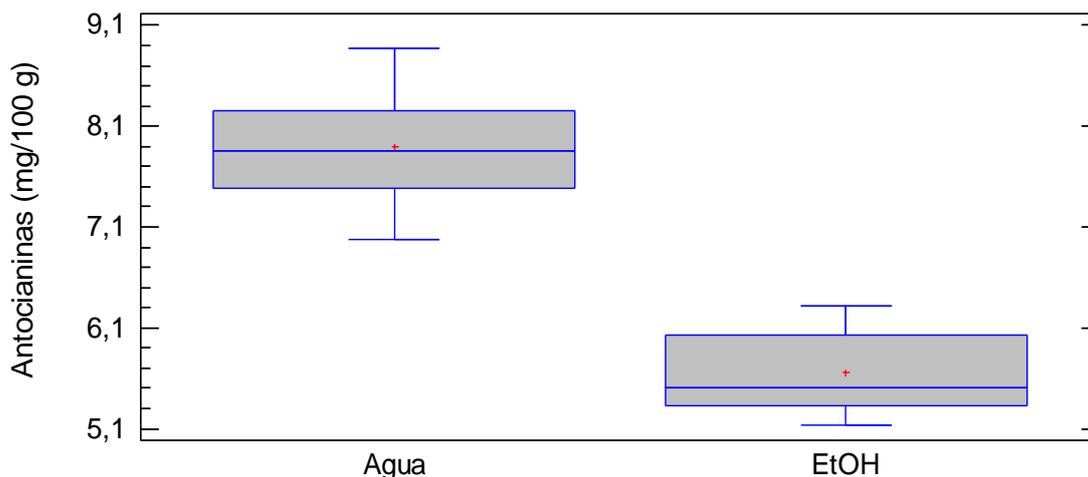


Figura 4. Diagrama de cajas y bigotes estandarizado de la influencia de disolventes en la extracción de antocianinas de sangorache.

Se observa en la figura 4 dos diferentes diagramas en donde, el primero representa la disolvente agua y el siguiente etanol con ácido clorhídrico. Detallando la figura se puede definir que con el segundo disolvente se reportan cifras bajas de concentración (5,65 mg/100g) con respecto al primero, por lo tanto, existió una diferencia significativa entre los dos. El disolvente con mayor importancia y como componente principal de la extracción fue el agua con una máxima concentración promedio de 7,89 mg/100 g de cianidina 3-glucósido. Por otra parte, los factores como la relación material vegetal volumen de disolvente (1:20), temperatura (80 °C) y tiempo (30 min) fueron variables que se mantuvieron constantes, ya que son sustanciales durante la extracción como se mencionó, primeramente.

(Naranjo, 2016) propone que las antocianinas son compuestos solubles en disolventes polares por lo cual se las extrae usando etanol, metanol, agua con bajas cantidades de ácido en donde (Gutierrez et al., 2009) indica que el ácido permite que el pH de estabilidad de las antocianinas se mantenga, previniendo así que se produzca una hidrólisis ácida que rompe los enlaces 3-monósidos, pero (Moreno, 2017) también menciona que al ser las antocianinas colorantes naturales son en su mayoría solubles en agua y de acuerdo a su importancia en el mercado mundial y la necesidad de conseguir un producto de fácil dosificación con un secado de bajas condiciones se pretende aplicar una técnica menos peligrosa que no perjudique ni degrade al extracto enriquecido de antocianinas.

3.2 Microencapsulación de antocianinas

En la actualidad existen diferentes métodos para la microencapsulación en el caso de **(Arrazola et al. 2014)** experimentaron que para elegir la mejor técnica depende del tamaño, biodegradabilidad de las partículas, biocompatibilidad también de las propiedades fisicoquímicas del material núcleo y pared al igual que la biocompatibilidad, la aplicación que ejerza la microesfera y el costo del producto. El método utilizado en esta investigación fue secado por aspersión, **(Figueroa, 2016)** aclara que en la industria alimenticia es uno de los más utilizados ya que ayuda a impedir la degradación química y biológica y así conseguir productos con propiedades específicas.

El proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión se basó en la atomización de la emulsión (concentrado de antocianinas de sangorache) en una corriente de gas caliente obteniendo así las microesferas. **(Cano et al, 2015)** mencionan que la calidad de las partículas esféricas depende de las características de la solución (velocidad de flujo, viscosidad), el aire de secado (flujo, presión y temperatura), también del contacto que se da entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado y del tipo de atomizador. En el proceso de esta investigación se utilizó el aire como gas, además, en el **(Anexo 2)** se presentan las condiciones requeridas para la microencapsulación

La temperatura de entrada fue importante ya que gracias a la misma ocurrió la evaporación de la solución **(Esquivel & Martínez, 2015)** explica que una temperatura baja provoca una baja velocidad de evaporación por ende las microesferas serán capaces de aglomerarse además pueden contener alto contenido de agua y poca fluidez. Sin embargo, una temperatura alta de aire de entrada provoca una vaporización excesiva y así puede romper la membrana induciendo esto a una degradación de los ingredientes del microencapsulado. En la investigación la temperatura de salida que fue la temperatura final del secado se la consideró como un parámetro del secador la misma que dependió de la inicial. Los polímeros utilizados fueron maltodextrina y goma arábiga para lo cual **(Arteaga, 2016)** se refiere como matrices de la microencapsulación y son unos de los más estudiados por sus ventajas entre ellas su baja viscosidad a altas concentraciones y buena solubilidad en agua. En el estudio se realizó una comparación de eficiencias de microencapsulación para conocer cuál de las dos matrices fue la que mejor protegió las moléculas de antocianinas de sangorache. A continuación, en la figura 5 se presenta el

diagrama de cajas y bigotes con la comparación de las eficiencias de los microencapsulados realizado mediante el análisis de varianza (**Anexo 3**).

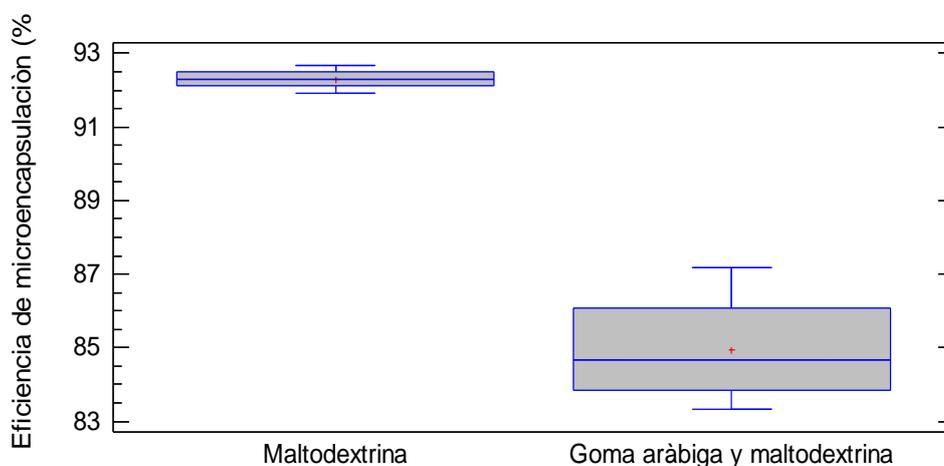


Figura 5. Comparación de las eficiencias de los dos microencapsulados

La prueba de múltiples rangos mediante el diagrama de caja y bigotes demuestran que existe diferencia significativa entre las medias de los tipos de microencapsulados. Cada eficiencia fue calculada mediante la fórmula (4) dando como resultado 92,30 % el microencapsulado con maltodextrina y 84,96 % para la encapsulación con la combinación de los polímeros. Comparando los resultados con otros estudios y no teniendo contradicción con los mismos (**Ortiz et al, 2011**) resulta que la maltodextrina es muy utilizada y eficaz sobre todo por su propiedad de reducir la permeabilidad de oxígeno del material pared. En el caso específico de (**Esquivel & Martínez, 2015**) la maltodextrina es uno de los elementos más empleados para optimizar el rendimiento en los productos obtenidos por atomización al ser un oligosacárido, a diferencia de la goma aràbiga ya que por su baja viscosidad se evidenció poca adherencia durante la atomización. Además, se consideró eficiente ya que alcanzó una máxima cantidad de material núcleo dentro de las partículas de microesferas esto se puede observar en la figura 6 del análisis por infrarrojo realizado.

3.3 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR

La técnica de espectrofotometría es muy utilizada para analizar la eficiencia de los microencapsulados ya que ayuda a interpretar las diferencias de las muestras a analizar gracias a que no existe dos estructuras moleculares que generen un mismo espectro (**Skoog & Leary, 1998**). Según (**Negrete & Secaira, 2016**) es útil si se requiere una

determinación cualitativa de los compuestos orgánicos presentes en una muestra, en la investigación realizada se analizó la eficiencia de las cada una de las microencapsulaciones mediante una gráfica que relacionó la cantidad de radiación IR que atravesaron las microesferas con la longitud de onda, observando así la posición de los picos de cada grupo funcional presente en las muestras. La figura 6 comparan los espectros de las antocianinas sin microencapsular, las microesferas, y las matrices de polímeros utilizadas.

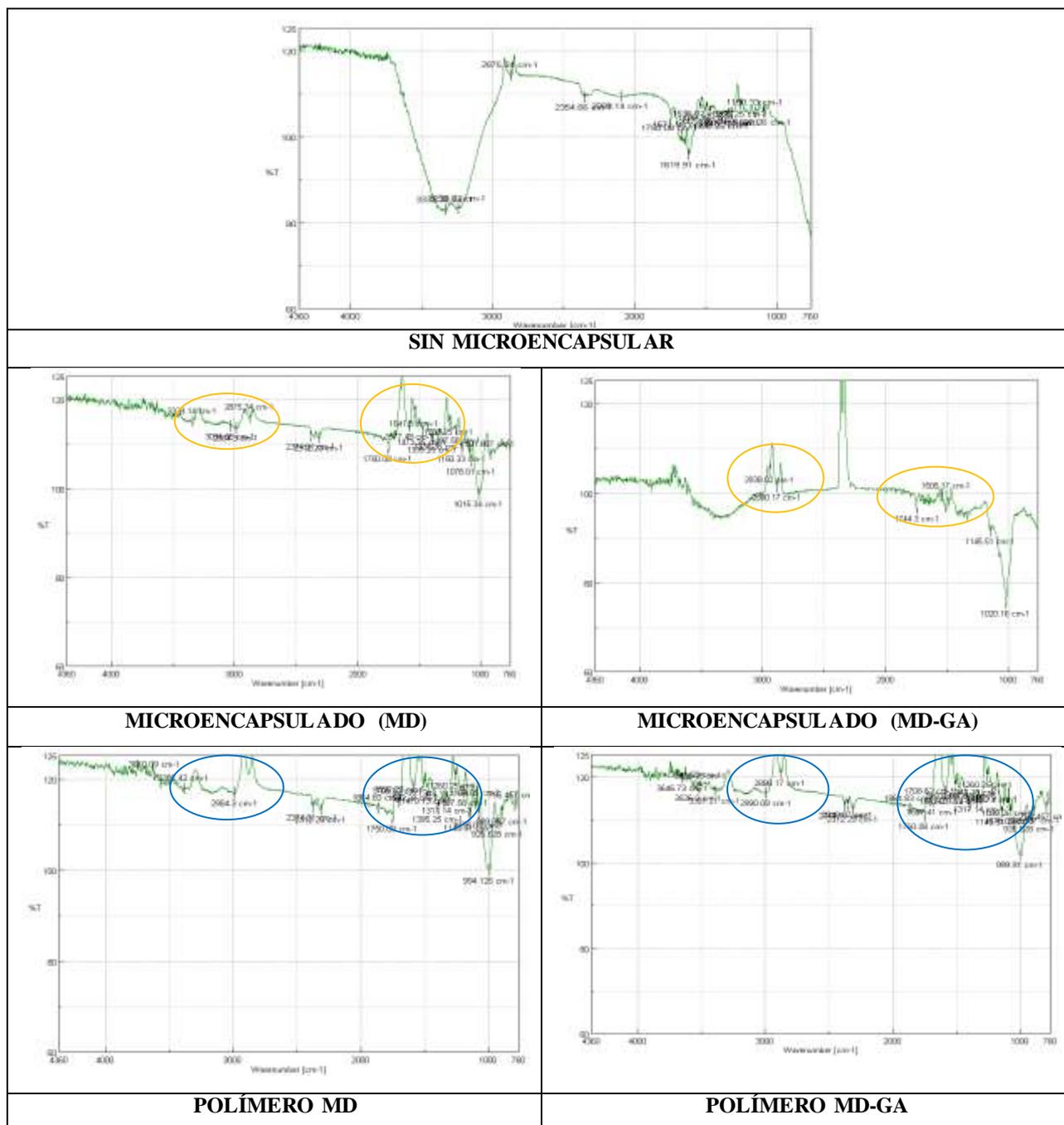


Figura 6. Espectrofotometría infrarroja FT-IR para comprobar la eficiencia de microencapsulación de antocianinas de sangorache. MD: microencapsulado con

maltodextrina, MD-GA: microencapsulado con maltodextrina y goma arábica relación 80:20 cada una.

En la figura 6 se presenta de manera descendente cada espectro correspondiente al extracto de antocianinas sin microencapsular, el microencapsulado de las mismas y los biopolímeros en un rango espectral de 4360 cm^{-1} a 760 cm^{-1} .

En la misma figura la elipse de color rojo abarca principalmente el rango espectral de $3333,36\text{ cm}^{-1}$ el resultado pone a manifiesto los espectros de banda ancha formados por puentes de hidrógeno característicos del grupo funcional hidroxilo y también el rango espectral de $1619,91\text{ cm}^{-1}$ a $1750,08\text{ cm}^{-1}$ (**Anexo 4**) que representa un grupo carbonilo (**Negrete & Secaira, 2016**), las características mencionadas pertenecen a los grupos estructurales de las antocianinas como lo indica (**Herrera & Montenegro, 2012**).

Las elipses de color naranja representan el rango espectral de los grupos funcionales de los dos tipos de microencapsulados teniendo como resultado que los grupos característicos de las antocianinas no están presentes ya que fueron cubiertos por los polímeros y no señaladas en el espectro. Se puede evidenciar que las antocianinas fueron completamente recubiertas por cada una de las matrices de los polímeros ya que si se aprecia las elipses de color azul de la misma figura comprenden los rangos espectrales de los grupos funcionales de las matrices poliméricas mismos picos de las microesferas de antocianinas de sangorache.

Es así que (**Negrete & Secaira, 2016**) establece que si las antocianinas fueron protegidas o cubiertas por la maltodextrina y la mezcla de goma arábica con maltodextrina mediante el secado por aspersion se demuestra la eficiencia del proceso de microencapsulación.

3.4 Evaluación de la actividad antioxidante

3.4.1 Capacidad antioxidante mediante el método de DPPH (*In vitro*)

El ensayo de DPPH fue propuesto por (**Bobo-García et al., 2015**) en donde explica que los radicales orgánicos estables muestran una tonalidad violeta; en el proceso se midió la capacidad antioxidante de cada microencapsulado mediante espectrofotometría.

Mediante el análisis Anova de la actividad antioxidante mediante DPPH (*In vitro*) al 95 % de confianza (**Anexo 5**), se obtuvo un valor de $p=0$ menor al valor de significancia (0,05) por lo tanto, si existe una diferencia significativa entre el concentrado de antocianinas, microencapsulado con maltodextrina y microencapsulado con la combinación de los polímeros. La prueba de Ducan comparó las medias de cada microencapsulado para ello la figura 7 es el ejemplar del diagrama de cajas y bigotes de dicha actividad.

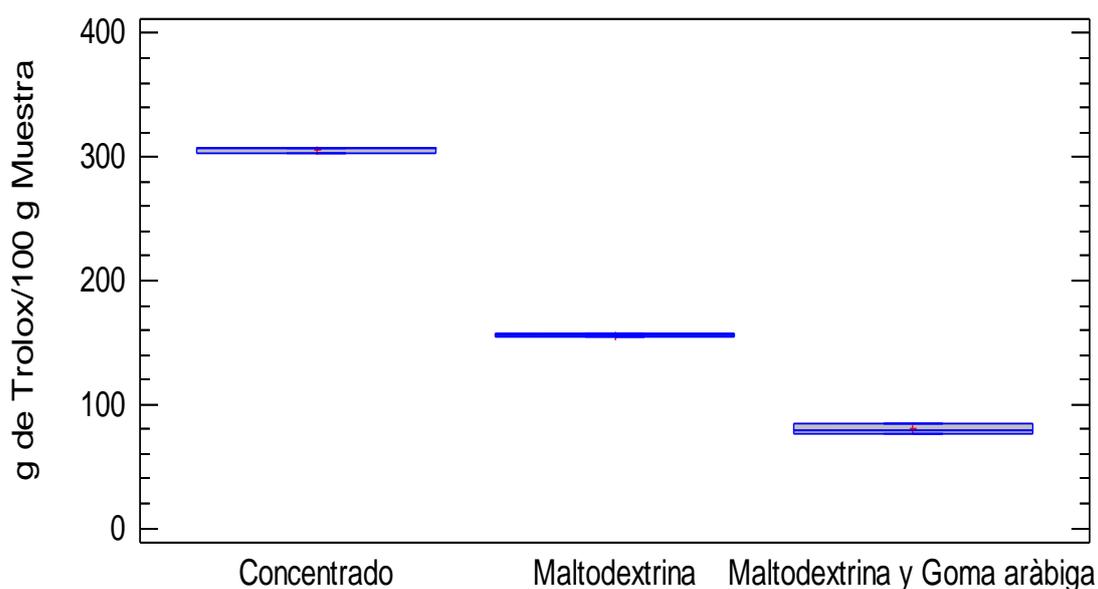


Figura 7. Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antioxidante *in vitro* del concentrado de antocianinas, microencapsulación con maltodextrina y microencapsulación con la combinación de los polímeros.

No obstante, se debe tener en cuenta que la figura indica que el concentrado es la muestra con mayor poder antioxidante debido a que en la muestra se encontraban antocianinas completamente libres sin otro elemento envolvente. A partir de lo anterior se puede analizar que las microesferas con alto contenido antioxidante fueron las microencapsuladas con maltodextrina a diferencia que con la combinación de maltodextrina y goma arábica. Los valores de μmol equivalentes de Trolox/ g de extracto fueron 306,56; 211,58; 107,84 respectivamente, dichos valores representan la capacidad de inhibición. En el (**Anexo 6**), se encuentra la ecuación mediante la cual se graficó los g de (Trolox/g de muestra Concentrado Maltodextrina y Goma Arábica) dichos resultados

concuerdan con la investigación de **(Arteaga & Arteaga, 2016)** ya que se utilizó goma para el secado por aspersión evidenciando una pérdida de la actividad antioxidante.

(Gallegos, 2016) manifiesta que los antioxidantes son captadores de radicales libres por lo cual retrasan o inhiben la etapa de iniciación del proceso de oxidación, dando como resultado la disminución en la formación de productos de descomposición volátiles, mientras que, **(Arrazola et al, 2014)** expresa que el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos dependerá del número y disposición de los grupos hidroxilo en las moléculas de interés por ello la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos poseen la facilidad de ceder átomos de hidrógeno grupo hidroxilo aromático a un radical libre y posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. Además, **(Londoño, n.d)** enuncia que los compuestos fenólicos presentan una estructura química ideal para captar iones metálicos (divalentes) y así inhibir la formación de radicales libres a través de reacciones tipo Fenton.

El método de DPPH se utilizó por su simplicidad, pero **(Londoño, n.d)** describe como desventaja la dificultad para interpretar los datos cuando se tienen sustancias cuyo espectro de absorción se solapa con el del radical, por lo tanto, es muy recomendable se realice más pruebas con otros métodos por el hecho de que en un procedimiento *in vitro* no se analizan las mismas estructuras polifenólicas que en los procesos *in vivo* **(Mera, 2018)**.

3.4.2 Actividad antioxidante con un sistema vivo de células (*In vivo*) con *Saccharomyces cerevisiae*

Entre los compuestos fenólicos se encuentran los polifenoles del tipo antocianina y otros fenólicos sencillos; dentro de la investigación se evaluó la relación entre el DPPH con las antocianinas en los diferentes microencapsulados como se mencionó anteriormente. Sin embargo, los ensayos *in vitro* no tienen en cuenta aspectos fundamentales tales como biodisponibilidad y metabolismo a demás no facilitan la información sobre los mecanismos *in vivo* de la respuesta antioxidante **(Soler, 2009)**. Para lo cual se realizó un ensayo *in vivo* propuesto por **(Mera, 2018)** con *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo modelo. La levadura *S. cerevisiae* es ampliamente estudiado por su gran importancia en la industria, **(Rodríguez, 2002)** indica que para que las células puedan

sobrevivir deben distinguir alteraciones en el medio ya que los diferentes cambios pueden producir efectos negativos en el microorganismo. En la investigación realizada se estudió la capacidad que posee el extracto de sangorache frente a una inducción de estrés oxidativo.

El estrés oxidativo se origina por altas exposiciones de oxígeno hacia el microorganismo o por otro tipo de moléculas oxidantes (Fiallos,2019). En (Barry, 2005) la producción de las especies reactivas del oxígeno (ROS) como radicales libres, es un proceso natural y constante y el daño que los radicales libres provocan en los diferentes tejidos depende de las especies reactivas del oxígeno y la defensa antioxidante que posee el microorganismo.

Se utilizó en el ensayo peróxido de hidrogeno (H_2O_2) según (Rodríguez, 2009) dicho elemento no es un radical libre ya que no contiene ningún electrón desapareado, pero, si es la especie del oxígeno más abundante con efectos muy destructores ya que puede traspasar con facilidad la membrana de la levadura además (Barry, 2005) alude que mediante una reacción de Fenton se genere el radical hidroxilo (HO) siendo este muy reactivo.

La actividad antioxidante con levadura *Saccharomyces cerevisiae* se presenta en la figura 8 en donde se analiza la curva de crecimiento y la respuesta del estrés oxidativo inducido con peróxido de hidrógeno comparada con vitamina C como agente antioxidante de referencia y cada uno de los tipos de microesferas de antocianinas de sangorache.

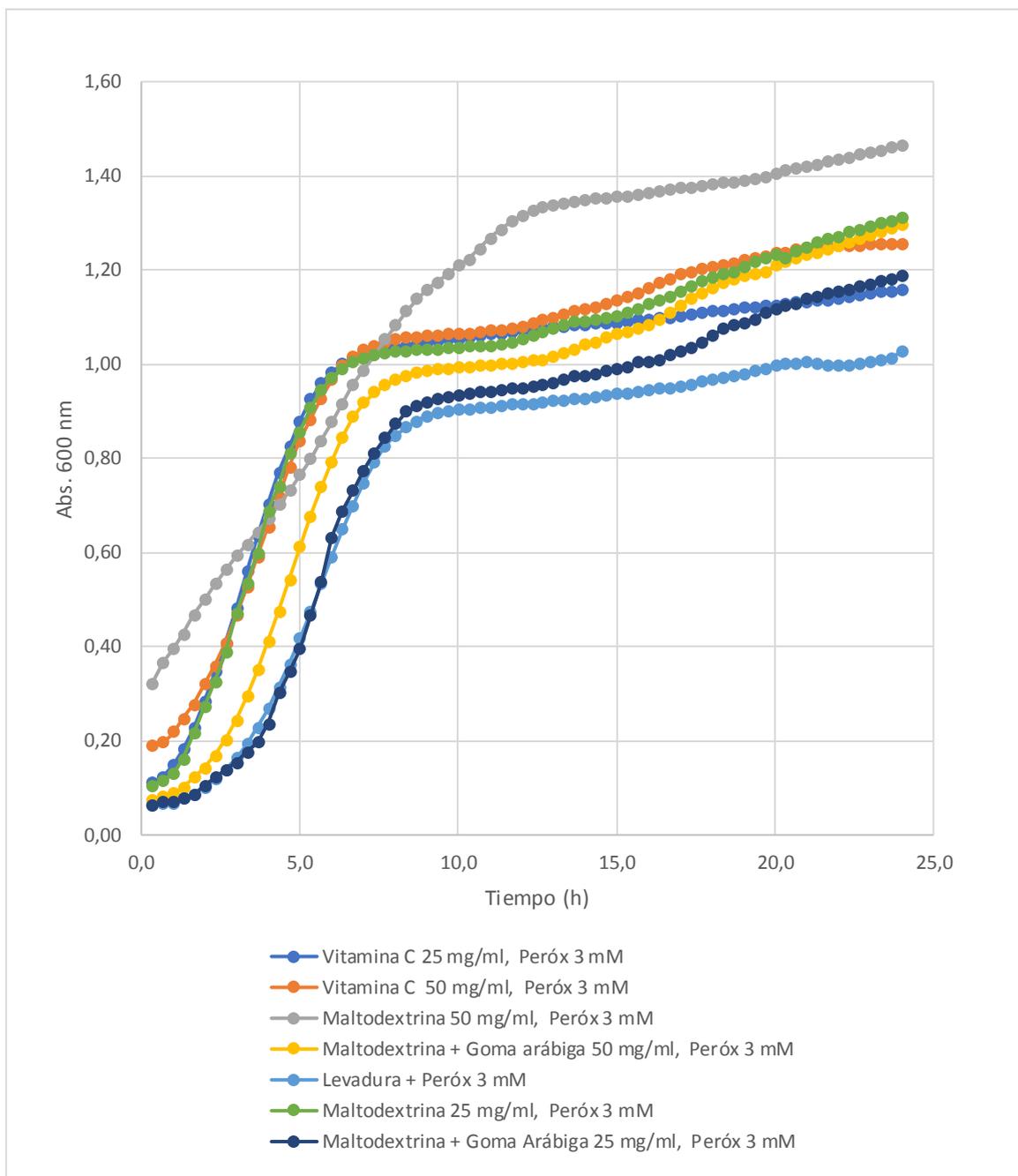


Figura 8. Curvas de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* frente a un estrés oxidativo inducido por el peróxido de hidrógeno 3 mmol/l, vitamina C como control positivo y la levadura sin la adición de un agente antioxidante como control negativo.

En la figura 8 se puede apreciar la existencia de diferentes curvas de cinética de crecimiento en donde la vitamina C se colocó como control positivo de la curva ya que para (NIH, 2016) dicha vitamina es conocida por su potencial antioxidante y ayuda a

salvaguardar las células contra los daños producidos por radicales libres; la concentración de la vitamina C fue de 25 y 50 mg/ml, con la adición de peróxido de hidrógeno como agente negativo. También se puede observar las curvas de cada microencapsulado de antocianinas con el agente negativo a las mismas concentraciones mencionadas anteriormente y finalmente el crecimiento de la levadura.

Se midió las absorbancias a 600 nm de cada tratamiento en donde se aprecia que el microencapsulado de antocianinas a 50 mg/ml con maltodextrina y peróxido de hidrógeno presentó un mayor crecimiento (1,46) por lo tanto, posee mayor capacidad antioxidante comparado con los demás sistemas porque la vitamina C y los microencapsulados de sangorache con la mezcla los polímeros a la misma concentración presentaron valores menores de absorbancia (**Anexo 7**) sin embargo, lograron realizar su crecimiento normal sin sufrir ningún estrés oxidativo debido a que la vitamina C y la levadura como lo indica (**Bastidas, 2019**) contiene compuestos antioxidantes tales como ubiquinol ácido D-eritroascórbico, flavohemoglobina, ácido D-eritroascórbico, el glutatión, ergosterol, metalotioneínas, trehalosa y poliaminas, además de metabolitos carotenoides y enzimas que detoxifican el oxígeno entre las cuales esta Cu/Zn superóxido dismutasa, peroxidasa, Mn superóxido dismutasa, tiorredoxina peroxidasa, citocromo C, catalasa A, glutatión reductasa, tiorredoxina reductasa, tiorredoxina, y catalasa T que ayudan a evitar la formación de radicales libres que provoquen el estrés oxidativo.

Es también importante enfatizar que las absorbancias obtenidas con las microesferas de sangorache con maltodextrina en las diferentes concentraciones mostraron resultados más altos que la vitamina C, por lo tanto, se demuestra que el extracto de sangorache ayuda a evitar el daño celular por la concentración de antocianinas que posee tomando en cuenta que las anteriores pruebas realizadas con dicho microencapsulado también presenta mayor eficiencia.

Por lo mencionado anteriormente, se tomó en cuenta la vitamina C como agente de control positivo por la bibliografía de (**Vilaplana, 2007**) al confirmar que actúa como antioxidante y agente reductor proporcionando electrones a compuestos tanto en el interior de la célula como en el exterior. Así, puede actuar fuera de la célula, conjuntamente con la vitamina E evitando la oxidación lipídica y también en la prevención del daño oxidativo sobre el ADN, cuya oxidación estaría relacionada con ciertos tipos de cáncer y envejecimiento.

Finalmente, la prueba *in vivo* realizada para determinar la capacidad antioxidante es de cuantiosa ayuda. **(Coronado et al, 2015)** reitera que los antioxidantes frenan las reacciones de oxidación en las células a partir de las cuales se originan los perjudiciales radicales libres entonces, su papel es clave en la reducción de enfermedades cardiovasculares, de tumores y de enfermedades neurodegenerativas al igual que actúan potenciando el sistema inmunológico.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.1 Conclusiones

- Se realizó la extracción de sólido líquido de antocianinas de las hojas y flores de sangorache (*Amaranthus quitensis*) con dos tipos de disolventes para lo cual se resaltó en la investigación que los pigmentos vegetales tienen un papel importante en las plantas por su función que es reproducir la especie y dispensar las semillas del fruto. Con lo mencionado anteriormente se llegó a la conclusión de que, la extracción de antocianinas es muy importante en la actualidad por las propiedades farmacológicas y terapéuticas que presentan, además, estos efectos están relacionados con la actividad antioxidante para lo cual, se microencapsuló el concentrado del material vegetal extraído con diferentes polímeros con el objetivo de poder demostrar dicha actividad.
- Se evaluó la eficiencia de extracción de las antocianinas de sangorache con cada tipo de disolvente (agua o la mezcla de etanol 96% y ácido clorhídrico en relación 85:15) comprobándose que el mejor disolvente para la extracción de antocianinas (cyanidina 3-glucósido) fue el agua alcanzando una concentración máxima de 7, 89 mg/100 g de material vegetal seco en relación material vegetal con disolvente 1:20, temperatura 80 °C y tiempo de extracción de 30 minutos.
- Se microencapsularon las antocianinas extraídas del sangorache (*Amaranthus quitensis*) mediante el secado por aspersion con diferentes matrices poliméricas (maltodextrina y la mezcla de maltodextrina con goma arábica) como agentes microencapsulantes, empleando una temperatura de entrada 150 °C para los dos tipos de polímeros y de salida de 95 °C para maltodextrina y 103 °C para maltodextrina con goma arábica, lográndose obtener un polvo fino constituido por las microesferas formadas.
- Se determinó la eficiencia de microencapsulación de antocianinas de sangorache (*Amaranthus quitensis*) se obtuvo como resultado que las microesferas con

maltodextrina presentaron una eficiencia de 92,30 % mucho más alta que con la mezcla de maltodextrina y goma arábiga que fue de 84,96 %, corroborándose este resultado en el análisis de espectrofotometría infrarroja realizado.

- Se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* mediante la prueba de DPPH e *in vivo* con un sistema vivo de células con *Saccharomyces cerevisiae* con las microesferas de antocianinas del sangorache. Los resultados de la primera prueba realizada fueron en μmol equivalentes de Trolox/ g de microesferas fue de 211,58 para el producto microencapsulado con maltodextrina y 107,84 con la mezcla de maltodextrina y goma arábiga, También se realizó la determinación de la actividad antioxidante por medio de una curva cinética siendo el microencapsulado con maltodextrina el que mostró una absorbancia mayor que los demás tratamientos incluso que la vitamina C que se utilizó como control. Por lo cual, se concluye que las antocianinas de sangorache microencapsuladas con maltodextrina presentan una elevada actividad antioxidante, demostrando *in vivo* esta actividad.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda que para el proceso de extracción de antocianinas no solo se determine el tipo de disolvente a utilizar ya que existen otros factores tales como la relación de material vegetal, temperatura y tiempo que influyen en la eficiencia del proceso.
- Realizar ensayos con otro tipo de polímeros para la microencapsulación.
- Utilizar otros tipos de agentes antioxidantes como control para la determinación de la actividad antioxidante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Aal, E. S. M., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76(3), 350–354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Alfredo, J., Montoya, S., & Martinez, L. C. (2002). *Aplicaciones Biotecnológicas de la Microencapsulación*. (January). Retrieved from <file:///C:/Users/Downloads/Aplicacionesbiotecnologicasdelamicroencapsulacion.pdf>
- Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). *Scientia Agropecuaria antocianinas y capacidad de rehidratación en polvo de arándano (Vaccinium corymbosum) microencapsulado con mezclas de hidrocoloides*. 7(3), 191–200. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05>
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). Microencapsulación de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por aspersion y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. *Informacion Tecnologica*, 25(3), 31–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Astrid, G. (2008). *LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds. A Review*. 13(3), 27–36. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004002.pdf>
- Badui, S. (2006). Química de los Alimentos. In *Química de los alimentos* (Cuarta Edi). Retrieved from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf
- Barros, D., & Stringheta, C. (2006). Microencapsulamento de antocianinas: Una alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. *Biotecnologia ciência e desenvolvimento*, 36(36), 18-24. Retrieved from https://www/publication/309077491_Microencapsulamento_de_antocianinas_-_Uma_alternativa_para_o_aumento_de_sua_aplicabilidade_como_ingrediente_alimenticio.pdf

- Barry, A. (2005). *CONTROL DEL METABOLISMO DE Saccharomyces cerevisiae*. Retrieved from <https://hera.ugr.es/tesisugr/15792390.pdf>
- Bastidas, V. (2019). Evaluación de la actividad antioxidante del contenido de antocianinas microencapsuladas de mora (*Rubus glaucus*). *Universidad Técnica de Ambato*, 1–9. <https://doi.org/10.37700/0033-2909.I26.1.78>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Cano, D., Paulista, U. E., & Nicoletti, V. R. (2015). *Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic , maltodextrin and modified starch OF turmeric oleoresin ... BINARY AND TERNARY BLENDS OF GUM ARABIC , MALTODEXTRIN AND MODIFIED STARCH*. (March). <https://doi.org/10.1590/S1413-70542015000200009>
- Castañeda, A. (2015). *Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas*. 25–33. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>
- Castañeda, A., Rodríguez, J., Galán, C., & Sanchez, S. (2008). Estudio De Efectos Que Afectan La Estabilidad De Antocianinas Y Piranoantocianinas En Solución Acuosa Mediante Herramientas Estadísticas. *Memorias in Extenso XXII Congreso Nacional de Química Analítica.*, (1), 177–182. Retrieved from http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_FisicAlim/Araceli_Ovan/8.pdf
- Cevallos, A., & Cisneros, L. (2004). *Food Chemistry Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants*. 86, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>

- Coronado H., M., Vega Y León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutricion*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Delgado, F., Jiménez, A., Paredes, O., & Francis, F. J. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 40). <https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
- Dubey, R., Shami, T. C., & Rao, K. U. B. (2009). *Microencapsulation Technology and Applications*. 59(1), 82–95. Retrieved from <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.849.9194&rep=rep1&type=pdf>
- Esquivel, B., & Martínez, O. (2015). *Redalyc. Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos*. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>
- Ferrari, C. C., Germer, S. P. M., & de Aguirre, J. M. (2012). Effects of Spray-Drying Conditions on the Physicochemical Properties of Blackberry Powder. *Drying Technology*, 30(2), 154–163. <https://doi.org/10.1080/07373937.2011.628429>
- Fiallo, H. (2019). *Extracción y microencapsulación, de carotenoides con actividad antioxidante a partir de Daucus carota*. (Vol. 23). Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29998/1/BQ_191.pdf
- Figueroa, P. M., & Ceballos, M. A. (2016). *Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (Rubus glaucus) extraído con CO 2 supercrítico* *Microencapsulation by spray drying of blackberry (Rubus glaucus) oil extracted with supercritical CO 2* *Microencapsulação por secagem por*. 39–47. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/para estudiar en la defensa.pdf
- Galarza, C. (2013). Obtención de un colorante a partir de las flores de ataco o sangorache (*Amaranthus* sp.). *Universidad Técnica de Ambato*, 96. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6635/1/BQ_44.pdf

- Gallego, M. (2016). *Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles*. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/30eb/b639b219043715af3e62ba3d12a4e3d788c2.pdf>
- Garzón, G., & Wrolstad, R. (2006). *Comparison of the Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins in*. (July). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10277.x>
- Gómez, A. (2013). Selección de un proceso de transformación para la disminución de compuestos antinutricionales en el grano y hoja de *Amaranthus* y Sangorache. *Escuela Politécnica Nacional*. Retrieved from <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5818/1/CD-4696.pdf>
- Guapi, J. (2014). *CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y FOTOQUÍMICA DE LOS GRANOS Y HOJAS DEL CHOCHO (Lupinus mutabilis Sweet), QUINUA (Chenopodium quinoa Willd), AMARANTO (Amaranthus caudatus L.) Y SANGORACHE (Amaranthus hybridus L.)*. 158. Retrieved from <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/689/1/UNACH-EC-ISC-2014-0004.pdf>
- Guerra, C. (2017). *CARACTERIZACIÓN Y MICROENCAPSULACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL MORTIÑO (Vaccinium floribundum, Kunth)*. UDLA. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/UDLA-EC-TIAG-2017-28.pdf
- Gutierrez, G., Acevedo, A., Ballarte, N., Llajaruna, P., Aquisé, S., Espinoza, T., & Jacobo, Q. (2009). *Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (Zea mays L.): Método de extracción*. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/85617461006.pdf
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 163–187. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100754>
- Hernández, B. (2016). “EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINA A PARTIR DE MAÍZ MORADO (Zea mays L) PARA SER UTILIZADO COMO ANTIOXIDANTE Y

COLORANTE EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. *Universidad Nacional “ Pedro Ruiz Gallo.”*

Herrera, S., & Montenegro A., (2012). Amaranto: prodigioso alimento para la longevidad y la vida. *Kalpana* Num. 8 (pag. 50-66) ISSN: 1390-5775. Retrieved from https://www.academia.edu/17770470/El_Amaranto_prodigioso_alimento_para_la_longevidad_y_la_vida

INIAP. (2002). El Ataco, Sangorache o Amaranto en Ecuador. *Validación y Difusión de Modelos de Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades En El Cultivo*, 16, 35. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2710/1/iniapscpm143.pdf>

INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ (INCAP) & ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS)., (2012). *Tabla de Composición de Alimentos* (2° Edición; S. S.A, ed.). Retrieved from [file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/Tabla de Composicion de Alimentos para Centroamerica del INCAP.pdf](file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/Tabla_de_Composicion_de_Alimentos_para_Centroamerica_del_INCAP.pdf)

Jiménez, J. (2013). Diseño del Proceso de extrucción para la elaboración de un suplemento nutricional con base en la mezcla de Amaranto, Quinoa, Choco y Avena. *Escuela Politécnica Nacional*. Retrieved from <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/6444/1/CD-4973.pdf>

Lee, D. W., Hwang, S. J., Park, J. B., & Park, H. J. (2003). Preparation and release characteristics of polymer-coated and blended alginate microspheres. *Journal of Microencapsulation*, 20(2), 179–192. <https://doi.org/10.1080/0265204021000058393>

Londoño, J. L. (n.d.). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. 129–162. Retrieved from <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.129-162.pdf>

Luna, J., Lopez, J., Jiménez, O., & Luna, L. (2016). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersion. *Revista Iberoamericana de*

- Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, (August). Retrieved from <https://doi.org/10.23913/ciba.v5i10.56>
- Mera, A. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante de liposomas obtenidos a partir del extracto etanólico de Greigia mulfordii*. Retrieved from http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29052/1/BQ_168.pdf
- Moreno, M. A. (2017). EXTRACCIÓN QUÍMICA DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO AÇAÍ COLOMBIANO (Euterpe oleracea Mart.). *Universidad de Bogota Jorge Tadeo*, 1–21. Retrieved from [https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/2685/EXTRACCIÓN QUÍMICA DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO AÇAÍ COLOMBIANO.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/2685/EXTRACCIÓN_QUÍMICA_DE_ANTOCIANINAS_DEL_FRUTO_AÇAÍ_COLOMBIANO.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Naranjo Jorge. (2016). *EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DE GULUPA (Passiflora edulis Sims.) CON APLICACIÓN EN PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS*. Retrieved from http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21263/43112018_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Narváez, G. (2016). Estabilización de las antocianinas presentes en el fruto de mortiño mediante el método de copigmentación intermolecular para la obtención de pigmentos antociánicos con potencial aplicación en la industria farmacéutica y cosmética. *Universidad Central Del Ecuador*. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13174/1/T-UCE-0008-QF010-2016--.pdf>
- Negrete A & Secaira, L. (2016). Elaboración y estandarización de microcápsulas de aceites esenciales de cúrcuma y jengibre como aditivos nutricionales para piscicultura. *Tesis*, 1–100. Retrieved from <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., & Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness.

Industrial Crops and Products, 42(1), 469–479.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.035>

NIH. (2016). Datos sobre la vitamina C. *National Institutes of Health*, 1–4. Retrieved from <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminC-DatosEnEspañol/>

Nunes, I. L., & Mercadante, A. Z. (2007). *Encapsulation of Lycopene Using Spray-Drying and Molecular Inclusion Processes*. 50(September), 893–900. Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132007000500018

Oancea, O., & Oprean, L. (2011). *ANTHOCYANINS , FROM BIOSYNTHESIS IN PLANTS TO HUMAN HEALTH BENEFITS*. XV(1), 7–9. Retrieved from <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/viewFile/81/75>

Olaya, C. M. (2009). *STABILITY OF ANTHOCYANINS FROM Rubus glaucus Benth AND Solanum betaceum Cav. dark-red strain AS AFFECTED BY TEMPERATURE , STORAGE TIME AND WATER ACTIVITY Efecto de la temperatura , almacenamiento y la actividad de agua sobre la estabilidad de antocianina*. 14. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/1483-33108-3-PB.pdf

Ortega, G. (2006). *Separación, caracterización estructural y cuantificación de antocianinas mediante métodos químico- físicos*. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120665001.pdf>

Ortiz, M. A., Reza, C., Gerardo, R., & Madinaveitia. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Chew Ciencias, Facultad De Universidad, Químicas Durango, Estado De Artículo, Av*, 16–22. Retrieved from <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/viewFile/81/75>

Peláez Soto, A., & Patricia Roig Montoya José Vicente Gil Ponce Valencia, D. (2016). *VALIDACIÓN FUNCIONAL DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CACAO MEDIANTE ENSAYOS IN VIVO CON ORGANISMOS MODELO*.

Peralta, E. (2008). Manual Agrícola de Granos Andinos. *INIAP*. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/833/4/iniapscm69.pdf>

- Peralta, E. (2009). Amaranto y Ataco. *Programa Nacional de Leguminosas y Granoas Andinos*. Santa Catalina, INIAP, 3.7. Retrieved from <http://181.112.143.123/bitstream/41000/2827/1/iniapsc322est.pdf>
- Peralta, E. (2010). Variedad mejorada de Amaranto. *INIAP*, 2,6. Retrieved from <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/833/4/iniapscm69.pdf>
- Pilataxi, M. (2013). ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN NUTRITIVA Y NUTRACÉUTICA DE PAN CON HARINA DE AMARANTO (*Amaranthus caudatus*). *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*, 1(Prevención de desórdenes alimentarios), 2–5. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1468/1/34T00246.pdf>
- Quispillo, J. (2013). SEPARACIÓN, PURIFICACIÓN Y POSIBLE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL Escobillón Rojo (*Callistemon speciosus*). *Escuela Superior Politécnica de Ambato*. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3097/1/56T00409.pdf>
- Rodriguez, M. (2002). Caracterización y análisis funcional de una familia de glutaredoxinas monotiólicas en la levadura *S. cerevisiae*. *Universidad de LLeida*. Retrieved from <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8077/Tmrm01de04.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sadilova, E., Stintzing, F., & Carle, R. (2006). *Anthocyanins , Colour and Antioxidant Properties of Eggplant (Solanum melongena L .) and Violet Pepper (Capsicum annuum L .)*. (May 2014). <https://doi.org/10.1515/znc-2006-7-810>
- Salazar, E., & Vinueza, D. (2015). Evaluación De la actividad cicatrizante de geles elaborados a partir de extractos lipídicos y etanólicos de Sangorache (*Amaranthus hybridus* L) sobre heridas producidas en ratones (*Mus musculus*). *Facultad de Ciencias, Bachelor*, 91. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4568>
- Salinas, Y., Soria, J., & Espinosa, E. (2010). *Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México*. Retrieved from

file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/FOLLETO TECNICO NO. 42 YOLANDA SALINAS.pdf

Skoog, D. :, & Leary, J. ; (1998). *ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO*. 409–461. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/lectura7.pdf

Souza, A. L. R., Hidalgo-Chávez, D. W., Pontes, S. M., Gomes, F. S., Cabral, L. M. C., & Tonon, R. V. (2018). Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. *LWT - Food Science and Technology*, 91(February), 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.053>

Tanquina, I. (2013). *EFEECTO DE LA ESPECIE Y EL PROCESAMIENTO SOBRE EL CONTENIDO DE COMPUESTOS Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL MAÍZ (Zea mays L.) NEGRO, FREJOL (Phaseolus vulgaris L.) NEGRO, SANGORACHE (Amaranthus quitensis L.) Y VARIEDADES DE PAPAS NATIVAS*. 43. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6494/1/A1507.pdf>

Teixeira, P., Silva, D., Leadir, I., Fries, L. M., Cristiano, I., De Menezes, R. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44(7), 1304–1311. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/cr/v44n7/0103-8478-cr-44-07-01304.pdf>

Timberlake, C. F. (1979). Anthocyanins--occurrence, chemistry extraction and. *University of Brisol*, 69–80. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/document.pdf

Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos. *Ambito Farmaceutico Nutricion*, 26(10), 79–86. Retrieved from <http://http://zl.elsevier.es>

Wrolstad, R. E. (2001). *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. 1–13. Retrieved from file:///C:/Users/DOCENTE/Downloads/Antocianinas-giusti2001-.pdf

Zapata, L. M. (2014). Arándanos Para Ser Utilizado Como Antioxidante Y. 96–97.
Retrieved from [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión_3_Tesis_Luz_Marina_Zapata.pdf %281%29.PDF?sequence=21](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versión_3_Tesis_Luz_Marina_Zapata.pdf%281%29.PDF?sequence=21)

ANEXOS

Anexo 1. Datos de la extracción de antocianinas de sangorache con diferentes tratamientos

DISOLVENTE AGUA H₂O						
TRATAMIENTO	RPLICA	Abs 535 nm	PROMEDIO	CONCENTRACIÓN mg/ 100g	% DE HUMEDAD	SÓLIDOS TOTALES
T₁M₁	T ₁ M _{1.1}	0,24	0,25	8,176	99,20	0,80
	T ₁ M _{1.2}	0,25		8,521	99,39	0,61
	T ₁ M _{1.3}	0,26		8,866	99,31	0,69
T₁M₂	T ₁ M _{2.1}	0,23	0,23	7,845	99,25	0,75
	T ₁ M _{2.2}	0,23		7,845	99,31	0,69
	T ₁ M _{2.3}	0,24		8,258	99,32	0,68
T₁M₃	T ₁ M _{3.1}	0,21	0,21	7,106	99,45	0,55
	T ₁ M _{3.2}	0,20		6,968	99,10	0,90
	T ₁ M _{3.3}	0,22		7,486	99,15	0,85
DISOLVENTE ETANOL 96% Y ÁCIDO CLORHIDRICO 37% RELACIÓN 85:15						
TRATAMIENTO	REPLICA	Abs 535 nm	PROMEDIO	CONCENTRACIÓN	% DE HUMEDAD	SÓLIDOS TOTALES
T₂M₁	T ₂ M _{1.1}	0,175	0,18	6,04	98,67	1,33
	T ₂ M _{1.2}	0,183		6,31	99,10	0,90
	T ₂ M _{1.3}	0,179		6,18	98,93	1,08
T₂M₂	T ₂ M _{2.1}	0,156	0,15	5,37	99,09	0,91
	T ₂ M _{2.2}	0,155		5,33	99,10	0,90
	T ₂ M _{2.3}	0,149		5,13	99,12	0,88
T₂M₃	T ₂ M _{3.1}	0,152	0,16	5,24	99,12	0,88
	T ₂ M _{3.2}	0,160		5,52	98,06	1,94
	T ₂ M _{3.3}	0,168		5,80	99,11	0,89 ⁱ

Anexo 2. Condiciones de la microencapsulación de antocianinas

MUESTRA	SOLUCIÓN	POLÍMERO DE ENCAPSULADO	TEMPERATURA DE ENTRADA (°C)	TEMPERATURA DE SALIDA (°C)
M_1P_1	Concentrado de antocianinas extraídos con agua	Maltodextrina	150	95
M_1P_1	Concentrado de antocianinas extraídos con agua	Maltodextrina y goma arábica	150	103

Anexo 3. Análisis de varianza de las eficiencias de microencapsulación

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
Entre grupos	107,898	1	107,898	79,21	0,0001
Intra grupos	8,17315	6	1,36219		
Total (Corr.)	116,071	7			

Se puede apreciar que a un 95 % de confianza el valor $p = 0,0001$ es menor respecto al nivel de significancia de 0,05 % por lo tanto si existió una diferencia significativa entre los dos tipos de microencapsulado.

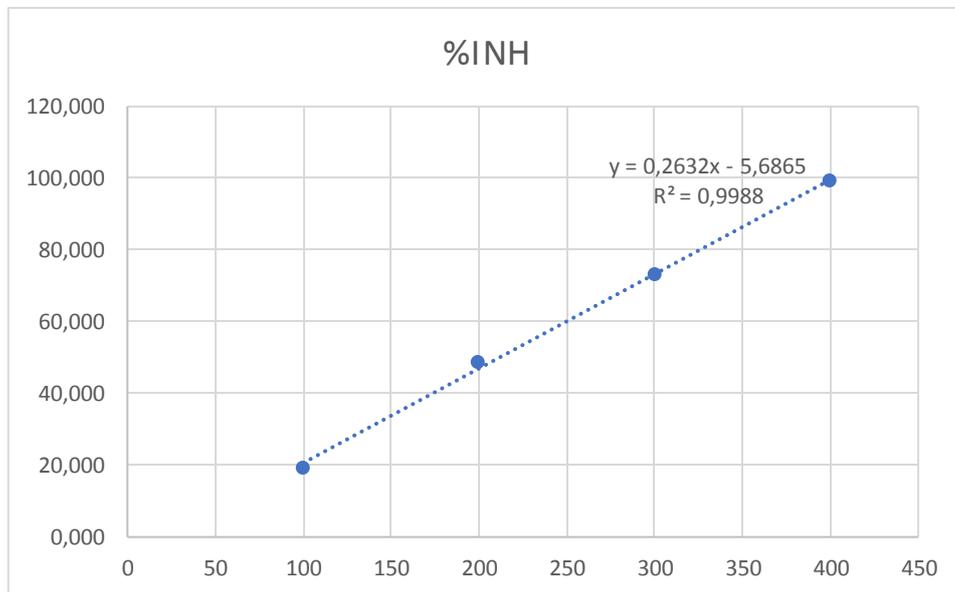
Anexo 4. Rangos espectrales del análisis infrarrojo del extracto de antocianinas

Wavenumber [cm-1]	%T
3333.36	82.9361
3239.82	83.2653
2875.34	114.194
2354.66	109.103
2099.14	109.318
1750.08	104.239
1671.98	100.289
1619.91	95.6475
1536.02	107.647
1499.38	106.523
1473.35	105.86
1395.25	104.612
1343.18	105.307
1317.14	105.46
1260.25	107.54
1150.33	105.496
1098.26	105.563

Anexo 5. Análisis Anova de la actividad antioxidante mediante DPPH (*In vitro*)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	78963,8	2	39481,9	5249,01	0,0000
Intra grupos	45,1307	6	7,52178		
Total (Corr.)	79008,9	8			

Anexo 6. Curva de calibración del porcentaje de inhibición frente a las μmol de Trolox



Anexo 7. Absorbancia de cada tratamiento para pruebas *in vivo* con *Saccharomyces cerevisiae*

TRATAMIENTO	Abs. 600 nm
Maltodextrina 50 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,46
Maltodextrina 25 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,31
Maltodextrina con Goma Arábica 50 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,29
Vitamina C 50 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,23
Maltodextrina con Goma Arábica 25 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,19
Vitamina C 25 mg/ml + 3 mM H ₂ O ₂	1,16
Levadura + 3 mM H ₂ O ₂	1,02