



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



Evaluación del potencial antioxidante del extracto de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze microencapsulado mediante secado por aspersión y su uso en la formulación de una bebida instantánea.

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

Autor: Leslie Johanna Pacheco Narvárez

Tutor: PhD. José Homero Vargas López

Ambato - Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. José Homero Vargas López

CERTIFICA:

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

Ambato, 29 de Julio de 2022

.....
PhD. José Homero Vargas López

C.I. 1801978048

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Leslie Johanna Pacheco Narváez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniera en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Leslie Johanna Pacheco Narváez

C.I. 0105782106

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:

.....

Esteban Mauricio Fuentes Pérez PhD.

C.I. 1803321502

Presidente del Tribunal

.....

Ing. M.Sc. Diego Manolo Salazar Garcés

C.I. 1803124294

.....

Dra. Liliana Alexandra Cerda Mejía

C.I. 1804148086

Ambato, 08 de septiembre de 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Trabajo de Titulación 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 Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....
Leslie Johanna Pacheco Narváez

C.I. 0105782106

AUTORA

DEDICATORIA

A mis padres, Gonzalo y Lucía, por apoyarme y enseñarme con su ejemplo que con esfuerzo y sacrificio puedo lograr todo lo que me proponga.

Leslie Johanna Pacheco Narváz

AGRADECIMIENTO

Agradezco a él PhD. Homero Vargas, PhD. Orestes López y Dr. Irvin Tubon por el tiempo y conocimientos compartidos, que fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Agradezco también:

A mis hermanos William, Edwin, y a mi cuñada Jessica. Por su cariño latente a pesar de la distancia, fueron fundamentales en este proceso de mi vida profesional.

A mi amado Erick, porque con su amor y tolerancia me enseñó a mantenerme fuerte frente a los obstáculos que se presentaron en esta etapa universitaria.

Leslie Johanna Pacheco Narváz

ÍNDICE DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ECUACIONES	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO	2
1.1 Antecedentes Investigativos	2
1.1.1 Descripción de la familia Rosaceae	3
1.1.2 Descripción de la especie <i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam.) Kuntze	4
1.1.2.1 Morfología	4
1.1.2.2 Taxonomía.....	4
1.1.2.3 Distribución.....	4
1.1.2.4 Usos.....	5
1.1.3 Composición nutricional.....	5
1.1.3.1 Química	6
1.1.3.2 Minerales y vitaminas	6
1.1.4 Compuestos bioactivos	7
1.1.4.1 Polifenoles.....	7
1.1.5 Actividad Antioxidante.....	10
1.1.6 Microencapsulación mediante secado por aspersión.....	12
1.2 Objetivos:	14
1.2.1 Objetivo General.....	14

1.2.2 Objetivos Específicos	14
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	15
2.1 Materiales, equipos y reactivos.	15
2.1.1 Materiales.....	15
2.1.2 Equipos	15
2.1.3 Reactivos.....	16
2.2 Métodos	17
2.2.1 Recolección de la planta	17
2.2.2 Preparación de fruto.....	17
2.2.3 Caracterización fisicoquímica del fruto	17
2.2.3.1 Determinación de pH	17
2.2.3.2 Determinación de sólidos solubles.....	17
2.2.3.3 Determinación de Acidez Titulable	17
2.2.4 Extracción de compuestos bioactivos	18
2.2.4.1 Determinación sólidos totales del extracto	19
2.2.5 Microencapsulación por secado por aspersión	19
2.2.5.1 Eficiencia del microencapsulado.....	19
2.2.6 Cuantificación de Polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu	20
2.2.7 Espectrofotometría Infrarroja	21
2.2.8 Evaluación de la actividad antioxidante por método in vitro	21
2.2.9 Elaboración de una bebida instantánea en polvo con el microencapsulado de <i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam.) Kuntze.....	22
2.2.9.1 Determinación de las propiedades sensoriales de la bebida instantánea en polvo.....	23
2.2.9.2 Determinación de la calidad microbiológica de la bebida instantánea en polvo.....	23
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3. Análisis y discusión de los resultados	25
3.1 Caracterización fisicoquímica del fruto de <i>Margyricarpus pinnatus</i>	25
3.2 Extracción de compuestos bioactivos de los frutos de <i>M. pinnatus</i>	26
3.2.1. Obtención del extracto vegetal líquido	26
3.3 Microencapsulación de polifenoles mediante secado por aspersión	28

3.3.1 Eficiencia del microencapsulado.....	29
3.3.2 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja (FTIR-ATR)	30
3.4 Evaluación del potencial antioxidante del extracto y microencapsulado de <i>M. pinnatus</i>	33
3.4.1 Polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu del extracto y del microencapsulado.....	33
3.4.2 Actividad antioxidante por método in vitro del extracto y del microencapsulado de <i>M. pinnatus</i>	35
3.5 Elaboración de una bebida instantánea en polvo con el microencapsulado de <i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam.) Kuntze.....	36
3.5.1 Análisis sensorial de la bebida instantánea en polvo	39
3.5.2 Análisis microbiológicos de la bebida instantánea en polvo	40
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
4.1 Conclusiones	42
4.2 Recomendaciones	43
C. MATERIALES DE REFERENCIA.....	44
Referencias Bibliográficas.....	44
Anexos.....	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam.) Kuntze.....	4
Tabla 2. Concentración de macroelementos en <i>M. pinnatus</i>	6
Tabla 3. Concentración de oligoelementos en <i>M. pinnatus</i>	7
Tabla 4. Características fisicoquímicas de los frutos de <i>Margyricarpus pinnatus</i> ...	25
Tabla 5. Eficiencia de microencapsulación.....	30
Tabla 6. Potencial antioxidante del extracto y microencapsulado de compuestos bioactivos de <i>M. pinnatus</i>	33
Tabla 7. Formulación de la mezcla en polvo para preparar una bebida instantánea con la adición de polifenoles de <i>M. pinnatus</i> con sabor a manzana verde.	37
Tabla 8. Resultados de los análisis fisicoquímicos de la bebida instantánea en polvo.	38
Tabla 9. Criterios de aceptabilidad.....	39
Tabla 10. Resultados de los análisis microbiológicos de la bebida instantánea en polvo.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación general de los polifenoles.	9
Figura 2. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.....	10
Figura 3. Diagrama básico de un secador por aspersion.	13
Figura 4. Concentración de Polifenoles Totales en el extracto de <i>M. Pinnatus</i>	27
Figura 5. Porcentaje Inhibición DPPH en el extracto de <i>M. Pinnatus</i>	27
Figura 6. Actividad Antioxidante en el extracto de <i>M. Pinnatus</i>	28
Figura 7. Espectroscopía infrarroja del extracto y microencapsulado de <i>Margyricarpus pinnatus</i>	31
Figura 8. Espectroscopía infrarroja del extracto microencapsulado disuelto de <i>Margyricarpus pinnatus</i>	32
Figura 10. Curva de calibración ácido gálico.	34
Figura 11. Curva de calibración de Trolox.	35
Figura 12. Resultados de la escala hedónica aplicada a los catadores de la mezcla de polvos.	39
Figura 13. Resultados de la escala hedónica aplicada a los catadores del producto reconstituido en agua.....	40

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Acidez Titulable.	18
Ecuación 2. Sólidos Totales.	19
Ecuación 3. Eficiencia del microencapsulado.....	20
Ecuación 4. Cuantificación de Polifenoles totales.	21
Ecuación 5. Porcentaje de Inhibición DPPH.....	22

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Planta de <i>Margyricarpus Pinnatus</i> (Lam.) Kuntze.	54
Anexo 2. Recolección de los frutos de <i>Margyricarpus Pinnatus</i> (Lam.) Kuntze	54
Anexo 3. Preparación de los frutos de <i>Margyricarpus Pinnatus</i> (Lam.) Kuntze	55
Anexo 4. Análisis ANOVA y TUCKEY en diferentes solventes utilizados para extracción de polifenoles en <i>M. pinnatus</i>	56
Anexo 5. Análisis ANOVA y TUCKEY en diferentes solventes utilizados para identificación de actividad antioxidante en <i>M. pinnatus</i>	57
Anexo 6. Determinación de acidez titulable del fruto <i>M.pinnatus</i>	58
Anexo 7. Análisis Microbiológico de la bebida en polvo.....	59
Anexo 8. Proceso de extracción y microencapsulación de compuestos bioactivos de <i>M.Pinnatus</i>	60
Anexo 9. Hoja de cata de la bebida reconstituida.....	61
Anexo 10. Hoja de cata de la bebida en polvo.....	62
Anexo 11. Etiqueta de la bebida.	63
Anexo 12. Panel de cata de la bebida instantánea en polvo sabor a manzana verde enriquecida con el microencapsulado de <i>M. pinnatus</i>	63

RESUMEN

La alimentación cada vez es menos variada y depende mayoritariamente de productos industrializados desplazando a especies silvestres, que únicamente se consumen localmente y en comparación con especies extensamente cultivadas no registran información científica ni tecnológica. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze (Nigua), una especie de la familia Rosaceae, posee potencial alimenticio por sus frutos comestibles, que no están siendo aprovechados y su comercio es incipiente. La presente investigación tiene la finalidad de evaluar el extracto de *M. pinnatus* microencapsulado mediante secado por aspersión y su uso en la formulación de una bebida instantánea. Los frutos fueron recolectados en Quero, Tungurahua, se establecieron sus propiedades físicoquímicas, y con etanol al 70 por ciento se realizó la extracción y microencapsulación de compuestos bioactivos luego de una prueba con etanol a distintas concentraciones. Se evaluaron polifenoles por Folin-Cioacalteau, y actividad antioxidante por método in vitro (DPPH). El extracto de *M. pinnatus* microencapsulado con maltodextrina (20:80), alcanzó una eficiencia del 88.97 por ciento, obteniendo 235.28 mg EAG, y 390.87 micromol Trolox por cada 100g, este último valor corresponde a un 78.11 por ciento de inhibición del radical DPPH. En la bebida instantánea en polvo reconstituida el espectro IR muestra un pico característico de polifenoles. Además, cumple con los requisitos físicoquímicos y microbiológicos, y su aceptabilidad es del 68.33 por ciento mediante análisis sensorial aplicado. A partir de esta investigación se infiere que los frutos de *M. pinnatus* tienen potencial como fuente importante de antioxidantes, lo que lo sitúa como una nueva alternativa para la industria alimentaria.

Palabras clave: Rosaceae, *Margyricarpus pinnatus*, extractos vegetales, industria alimentaria, secado por aspersión, microencapsulación, polifenoles, maltodextrina, bebidas instantáneas.

ABSTRACT

Food is less and less varied and depends mostly on industrialized products displacing wild species, which are only consumed locally and compared to widely cultivated species do not record scientific or technological information. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze (Nigua), a species of the Rosaceae family, has nutritional potential due to its edible fruits, which are not being used and its trade is incipient. The purpose of this research is to evaluate the extract of *M. pinnatus* microencapsulated by spray drying and its use in the formulation of an instant beverage. The fruits were collected in Quero, Tungurahua, their chemical physical properties were presented, and with 70 percent ethanol, the extraction and microencapsulation of bioactive compounds was carried out after a test with ethanol at different concentrations. Polyphenols were evaluated by Folin-Cioacalteau, and antioxidant activity by in vitro method (DPPH). The extract of *M. pinnatus* microencapsulated with maltodextrin (20:80), achieved an efficiency of 88.97 percent, obtaining 235.28 mg EAG, and 390.87 micromol Trolox per 100g, this last value corresponds to a 78.11 percent inhibition of the DPPH radical. . In the reconstituted powdered instant drink, the IR spectrum shows a characteristic peak of polyphenols. In addition, it meets the physicochemical and microbiological requirements, and its acceptability is 68.33 percent through applied sensory analysis. From this research it is inferred that the fruits of *M. pinnatus* have potential as an important source of antioxidants, which places it as a new alternative for the food industry.

Keywords: Rosaceae, *Margyricarpus pinnatus*, plant extracts, food industry, spray drying, microencapsulation, polyphenols, maltodextrin, instant beverages.

CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

En la actualidad se estima que existen aproximadamente 67000 especies comestibles de plantas, de las cuales tan solo cien especies mueven económicamente la industria alimentaria mundial, lo que representarían alrededor del 0,15 % de lo que se dispone en realidad, esto debido a que a lo largo de la historia, el ser humano ha ido independizándose de la naturaleza, lo que involucró mayor dependencia de unos pocos cultivos, así la alimentación cada vez es menos variada y depende mayoritariamente de productos envasados, industrializados y de producción en masa, provenientes de monocultivos, desplazando a un gran número de cultivos incluyendo especies silvestres, y paralelamente ocasionando la pérdida del conocimiento popular de los recursos naturales alimentarios (**Rapoport, 2007**). En el Ecuador, la mayoría de las plantas, en particular las silvestres, se consumen localmente y se conocen solo por reportes etnobotánicos, en comparación con especies extensamente cultivadas que registran información científica y tecnológica, sin embargo, en los últimos años se ha incrementado la información de especies promisorias, en particular las frutales (**García, 2011**). Los datos registrados en territorio ecuatoriano señalan la existencia de 1561 especies de plantas alimenticias, que engloban a 160 familias y 461 géneros, de las cuales, tan solo 131 especies (8%) son cultivadas, es decir, la situación es semejante a la mencionada con anterioridad, a nivel mundial se precisa de un número limitado de especies cultivadas, aunque se cuente con un rango mucho mayor de especies silvestres para el consumo humano. Además, es importante tomar en cuenta que de las especies alimenticias en el Ecuador, los frutos y semillas corresponden al 80% por lo que serían las partes de las plantas consumidas mayormente (**Balslev et al., 2009**) .

Por consiguiente, se precisa del uso inteligente de los recursos que implica estudiar las plantas y sus compuestos químicos, en este sentido, se destacan los frutos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze, que poseen quinonas, compuestos bioactivos, específicamente compuestos fenólicos, flavonoides, leucoantocianidinas y saponinas (**Paucar, 2021**) , además poseen alto contenido

de compuestos minerales tales como: K, Ca, Mg y P **Martínez et al. (2015)**, sin embargo, presenta sensibilidad a la oxidación, así que para proteger los compuestos bioactivos de la oxidación y de reacciones indeseables, así como de condiciones adversas de luz (**Esquivel et al., 2015**), temperatura extrema, pH, humedad, mantener su estabilidad, viabilidad y controlar su liberación hasta llegar a su objetivo, se hace necesaria la aplicación de procesos de conservación que permitan mantener los compuestos de interés y alargar su vida útil como la técnica de encapsulación mediante el proceso de secado por aspersión (**Hernández et al., 2016**). Adicionalmente, cabe mencionar que a los compuestos bioactivos se les atribuye influencia en las actividades celulares y fisiológicas obteniendo, tras su ingesta, efectos beneficiosos para la salud, como su rol en la prevención del desarrollo de distintos tipos de cáncer y de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares (**Martínez et al., 2008**).

Con base en lo antes mencionado se desarrollará el presente trabajo con el objetivo de obtener un extracto microencapsulado rico en compuestos bioactivos de los frutos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze mediante secado por aspersión, el énfasis que se dará a la obtención del extracto microencapsulado a partir de la planta se fundamenta en que contiene los componentes activos más importantes de manera muy concentrada, dicha característica permite que se puedan aprovechar con mayor eficacia los metabolitos secundarios presentes, como tal se tienen los compuestos fenólicos cuya estructura química con grupos hidroxilo les confiere propiedades antioxidantes (**Paucar, 2021**).

1.1.1 Descripción de la familia Rosaceae

Es un grupo de plantas dicotiledóneas que corresponden al orden de los rosales, es considerada una familia importante integrada por un gran número de especies enlistando alrededor de 3500 especies e incluyen alrededor de 115 géneros, que se distribuyen mundialmente, encontrándose con mayor frecuencia en las regiones templadas y subtropicales del Hemisferio Norte, que comprenden una gran parte de frutas de consumo masivo tales como manzana, durazno, ciruela, cereza, frutilla, frambuesa e incluye muchas especies ornamentales, de allí su importancia económica y nutricional (**Muñoz & Navarro, 2010**).

1.1.2 Descripción de la especie *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze

1.1.2.1 Morfología

Es un subarbusto dado que alcanza su altura máxima a 30 centímetros del suelo, mismo que debe registrar un pH ácido o neutro que puede ser pobre en términos de nutrientes y de textura arenosa. En cuanto a su estructura posee hojas pinnaticompuestas de coloración verdosa, adicionalmente presenta flores solitarias axilares con espinas diminutas debajo de los sépalos. Sus frutos son comestibles de pequeño tamaño y de color blanco, pero pueden tornarse de color rosa cuando llega a su estado máximo de maduración (BNDB, 2003).

1.1.2.2 Taxonomía

En la siguiente tabla se puede evidenciar la clasificación taxonómica de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Género	<i>Margyricarpus</i>
Especie	<i>Pinnatus</i>

Fuente: Jorgensen & León-Yáñez, (1999).

1.1.2.3 Distribución

Es una planta nativa en los Andes de Sudamérica, y su nombre común presenta variantes entre los distintos países, de manera que en Argentina toma el nombre de perlilla (IBODA, 2000), en Bolivia se denomina canlli o pampa duraznillo (Solomon, 2014), en Chile se le conoce como sabinilla, perla o romerillo (R. Rodríguez et al., 2018), en Brasil como fruta de perdiz (Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020) y en la zona Norte de Ecuador se halla como nigua o piquiyuyo (Jørgensen & Ulloa, 1994). Se encuentra principalmente en estepas ubicadas en suelos pedregosos y arenosos (BNDB, 2003).

1.1.2.4 Usos

En la medicina popular se emplean las hojas y tallos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze en infusiones que son utilizadas para tratar trastornos asociados con problemas renales y urinarios por su acción depurativa (Martínez et al., 2015).

Además, a los frutos de *M. Pinnatus* tienen usos alimenticios y medicinales destacando que Cordero, Abello, & Galvez (2017) mencionan que la pulpa del fruto posee un sabor dulce y agradable que se usa para elaborar licor artesanal, salsas y para decoración en repostería. De acuerdo con Ciganda & Laborde, (2003) los frutos de *M. Pinnatus* sirven de alimento y se consumen frescos, aunque también son usados antes del parto para inducir a que la placenta descienda. De manera semejante, Peñafiel, (2003) afirma que la infusión de la planta es consumida por mujeres luego del parto para evitar complicaciones puerperales y se usa para acelerar la infección con sarampión o viruela. Así también Aguirre, Yaguana, & Merino, (2014) alegan que el fruto en decocción se usa para tratar infecciones respiratorias agudas.

Todos los usos antes mencionados se relacionan con que a *M. Pinnatus* se le atribuyen propiedades astringentes, cicatrizantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y antivirales relacionadas con compuestos biológicos activos específicamente los flavonoides en dicha especie (Martínez et al., 2015). Conforme a ello Orrego, (2013) cita que la acción antiviral que *M. pinnatus* registra es mayor al 95% en contraste con aciclovir con 99% de actividad para contrarrestar infecciones por virus herpes simple.

1.1.3 Composición nutricional

La información sobre la composición es mundialmente utilizada como un indicador del valor nutricional de productos alimenticios de consumo humano. Dicho brevemente el valor nutricional hace referencia a los macronutrientes esenciales que incluyen proteínas, lípidos e hidratos de carbono, así también a los micronutrientes que contemplan a las vitaminas o minerales y adicionalmente al valor energético que aporta el alimento (Greenfield & Southgate, 2006).

1.1.3.1 Química

Según **Castañeda & Condori, (2010)** la especie *Margyricarpus pinnatus* registra presencia de quinonas, polifenoles, flavonoides, leucoantocianidinas y saponinas en sus hojas y frutos.

Así también en un estudio efectuado por **García, Quijano, Morales, & Pino, (2009)** del aceite de la hoja y fruto de *M. pinnatus* se encontraron compuestos químicos como limoneno, α -pineno, sabineno y pinocarvona como sus principales componentes.

1.1.3.2 Minerales y vitaminas

En el estudio de **Martínez et al., (2015)** se analizaron los elementos minerales esenciales mayoritarios y minoritarios en materia seca e infusiones de 15 muestras de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze obteniendo que las concentraciones de minerales son menores en las infusiones en comparación con la concentración mineral de la materia seca, no obstante, se mantienen valores importantes de dichos macroelementos. Los valores obtenidos se muestran a continuación:

Tabla 2. Concentración de macroelementos en *M. pinnatus*.

Elemento	Concentración en materia seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en infusión (mg L ⁻¹)
Calcio	1270 ± 56	10,23±1,56
Fósforo	825± 22	3,56±1,54
Potasio	2626±78	41,76±6,98
Magnesio	1372±31	4,18±1,35

Fuente: (Martínez et al., 2015)

Tabla 3. Concentración de oligoelementos en *M. pinnatus*.

Elemento	Concentración en materia seca (mg kg ⁻¹)	Concentración en infusión (mg L ⁻¹)
Al	1536 ± 209	0,284±0,05
Co	0,63± 0.08	<0,06
Cr	3,23±0,56	0,019±0,005
Cu	6,98±0,82	0,022±0,005
Fe	980 ±60	0,15±0,02
Li	5,42±0,73	<0,06
Mn	59,62±4,02	0,086±0,008
Mo	0,41±0,07	<0,015
Na	250±19	1,09±0,02
Ni	2,69±0,19	<0,03
V	6,56±0,39	<0,09
Zn	12,14±1,63	0,029±0,009

Fuente: (Martínez et al., 2015)

Por otra parte, **Sosa et al., (2007)** con el objeto de caracterizar farmacobotánicamente a especies diuréticas de uso popular en argentina e identificaron que los metabolitos a los que pueden atribuirse su actividad a nivel renal son los flavonoides, entre dichas especies se hallaba *Margyricarpus pinnatus* que resultó mayormente activa que las demás.

1.1.4 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos impactan positivamente en la salud de los individuos aunque no signifiquen un aporte en el valor nutricional, y se sabe que entre los más importantes se encuentran los polifenoles, flavonoides, glucosinolatos, carotenoides, compuestos azufrados, taninos, saponinas, lignanos, cumarinas, terpenos, y la capsaicina, (**Arroyo et al., 2018**).

1.1.4.1 Polifenoles

Generalidades

De acuerdo a **Valencia et al., (2017)** los polifenoles son metabolitos secundarios que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, no cumplen el rol de nutrientes esenciales, pero tienen alta actividad como antioxidantes por su capacidad de captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, que según **Elejalde, (2001)** de otro modo provocarían estrés oxidativo en las células y generación de radicales libres que son la

causa principal de un gran número de enfermedades como cáncer, aterosclerosis, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares.

Las propiedades antes mencionadas le confieren el potencial de ingrediente funcional para productos alimenticios nuevos con extractos naturales ricos en compuestos fenólicos. Así también cabe mencionar que dichas sustancias inciden directamente en la calidad, aceptabilidad y estabilidad del fruto cumpliendo la función de colorantes, antioxidantes y le proporcionan sabor. Sin embargo, otro punto a considerar es que en las frutas, la concentración de polifenoles difiere en relación con su variedad o grado de maduración (**Creus, 2004**).

Estructura Química

Los polifenoles tienen mínimo un anillo aromático junto a uno o varios oxhidrilos en su conformación (**Valencia et al., 2017**), y se hallan clasificados en flavonoides, taninos y ácidos fenólicos. Aproximadamente se han identificado 8000 compuestos fenólicos, los cuales se caracterizan por dos anillos aromáticos y un heterociclo oxigenado, e incrementan la complejidad de su estructura conforme aumentan de sustituyentes (Mercado et al., 2013). En general, los grupos en los que se clasifican los polifenoles son los que se muestran en la Figura 1.

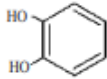
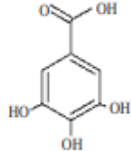
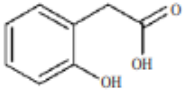
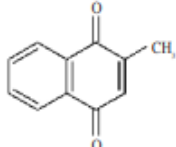
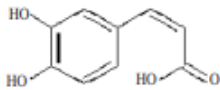
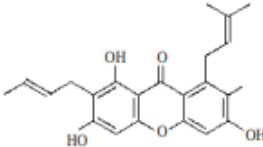
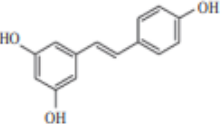
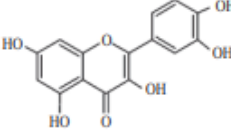
Clase	Estructura	Ejemplo	Clase	Estructura	Ejemplo
Fenoles simples	C_6	 Catecol	Ácidos hidroxibenzoicos	C_6-C_1	 Ácido gálico
Ácidos fenilacéticos	C_6-C_2	 Ácido 2-hidroxi-fenilacético	Naftoquinonas	C_6-C_4	 Menadiona
Ácidos hidroxicinámicos	C_6-C_3	 Ácido caféico	Xantomas	$C_5-C_1-C_6$	 Mangostina
Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$	 Resveratrol	Flavonoides	$(C_6-C_3-C_6)$	 Quercetina

Figura 1. Clasificación general de los polifenoles.

Fuente: (Mercado et al., 2013)

Además, cabe señalar que los grupos de polifenoles que destacan mayormente son ácidos fenólicos provenientes del ácido hidroxibenzoico o hidroxicinámico, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones et al., 2012).

Fundamento del método Folin-Ciocalteu

El ensayo de Folin-Ciocalteu es una metodología habitualmente aplicada a matrices de procedencia natural como plantas y alimentos para cuantificar su cantidad de compuestos fenólicos totales (Nossa et al., 2016), y se fundamenta en la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo de Folin-Ciocalteu, que produce la aparición de un tono azul característico, en un medio con pH alcalino, y se analiza mediante espectrofotometría a 765 nm (Urbano, 2016).

El reactivo de Folin-Ciocalteu está constituido por wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, que reacciona con los polifenoles en la muestra de ensayo.

A partir de las dos sales mencionadas en medio ácido, se origina ácido fosfomolibdotúngstico, mismo que tiene una coloración amarilla y se torna de color azul intenso al ser reducido por los grupos fenólicos, dicha intensidad de la coloración azul en la reacción es la que se mide para determinar la cantidad de polifenoles totales (García, Fernández, & Fuentes, 2015). Fundamentalmente, la cantidad de polifenoles totales, se expresan en su equivalente de catequina o ácido gálico, utilizados como estándares cuantitativos (Ramírez, 2017).

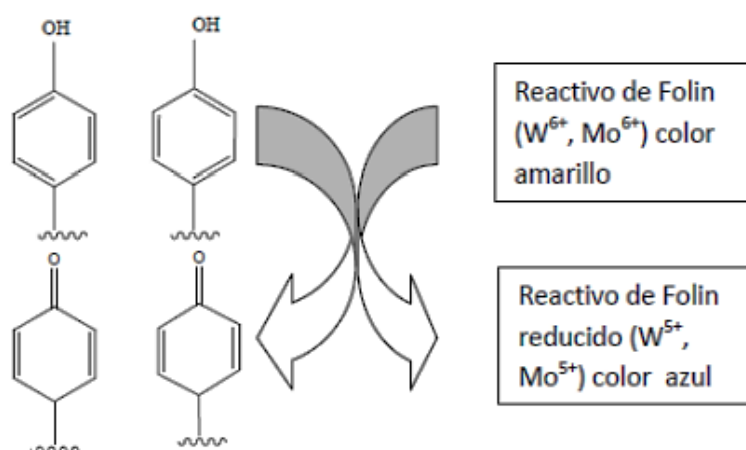


Figura 2. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Fuente:(García, Fernández, & Fuentes, 2015)

1.1.5 Actividad Antioxidante

Generalidades

La actividad antioxidante es la aptitud de una sustancia para impedir la degradación oxidativa, es decir, un antioxidante posee la capacidad para reaccionar con radicales libres por lo que se le conoce también con el término de antioxidante terminador de cadena (Londoño, 2013). Generalmente, en sistemas biológicos, los radicales libres existentes ocasionan trastornos degenerativos, como mutagénesis, carcinogénesis, trastornos cardiovasculares y envejecimiento. En este sentido los antioxidantes contrarrestan el efecto negativo de los radicales libres, en las diferentes etapas de la oxidación iniciación, propagación y terminación. Las personas no tienen la capacidad para inhibir la actividad de los radicales libres, por lo que es recomendable consumir

alimentos con propiedades antioxidantes con la finalidad de inhibir dicha actividad. **(Gutiérrez et al., 2007)**.

En los alimentos su capacidad antioxidante se asocia con la actividad antioxidante de los compuestos que posee tales como polifenoles, carotenos, antocianinas, etc **(Repo & Encina, 2008)**. Destacando las vitaminas y los compuestos fenólicos como importantes componentes antioxidantes en frutas, vegetales y cereales **(Rioja, 2018)**. Dado que el potencial antioxidante de una matriz alimentaria se vincula de forma directa con la existencia de compuestos bioactivos, ha surgido un interés por la búsqueda de nuevas fuentes de compuestos bioactivos en los alimentos (Benítez et al., 2020).

Actualmente, la actividad antioxidante, relacionada con la presencia y estructura química de los polifenoles, ha tomado mayor popularidad por sus efectos beneficiosos para la salud atribuidos a los alimentos y bebidas ricos en polifenoles **(Padilla et al., 2008)**. De hecho, las metodologías utilizadas para determinar la actividad antioxidante se fundamentan en verificar cómo el agente oxidante provoca daño oxidativo a un sustrato oxidable, sin embargo, el daño se reduce o inhibe cuando existe un antioxidante en el medio de ensayo. Dicha inhibición es proporcional a la actividad antioxidante de la muestra **(Fernández et al., 2013)**.

Fundamento del método DPPH

El método de eliminación de radicales libres de α , α -difeníl- β -picrilhidrazilo (DPPH) es un ensayo simple para evaluar el potencial antioxidante de una muestra biológica ya sea un compuesto o un extracto. Básicamente, en dicho ensayo la muestra se mezcla con una solución de DPPH en proporciones definidas, cuya absorbancia se mide mediante espectrofotometría después de un tiempo establecido **(Kedare & Singh, 2011)**.

El 2,2-difeníl-1-picril-hidrazil-hidrato ó DPPH es un radical nitrogenado orgánico y estable, que presenta una coloración violeta intensa, y no precisa ninguna reacción previa. El radical libre antes mencionado presenta estabilidad a temperatura ambiente, y se reduce en presencia de una molécula antioxidante, originando que la solución se torne incolora**(García et al., 2012)**. En síntesis, la actividad antioxidante se determina

por la reducción de la intensidad de color por acción de un compuesto antioxidante, mediante espectrofotometría a 517 nm (**O. Rodríguez et al., 2016**).

De acuerdo con **Mesa et al., (2010)** el ensayo (DPPH) también se puede definir como un método para cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de los extractos , que se determina mediante el grado de decoloración que producen sus componentes a una solución metanólica de DPPH.

Los resultados se expresan como valores de la capacidad antioxidante en equivalentes trolox (TEAC) mediante una curva patrón usando como antioxidante Trolox. El término “TEAC” de un extracto se refiere a que la concentración de la solución de trolox mantiene la misma capacidad captadora de radicales libres que el extracto. Para lo cual se emplea una ecuación de correlación con lo que se determina su correspondiente equivalencia en Trolox según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido en cada muestra o extracto (**Tovar, 2013**).

1.1.6 Microencapsulación mediante secado por aspersión

Existen una variedad de alimentos y fármacos en los que la actividad biológica de sus compuestos se reduce a un plazo muy corto, debido a la rápida oxidación por la exposición al entorno, y a la degradación a la que se someten en su procesamiento, en consecuencia, existe una pérdida parcial o total de los mismos que se traduce en la eliminación de sus propiedades funcionales lo que restringe su aplicación para productos de consumo humano. En respuesta a ello, surge la microencapsulación como un método para la conservación de las propiedades fisicoquímicas de sustancias químicas mediante la técnica de secado por aspersión (**Castañeta, Gemio, Yapu, & Nogales, 2011**).

La microencapsulación se define como el proceso que implica el revestimiento de un material puro o una mezcla en estado líquido, sólido o gas, que puede ser un compuesto de interés o sustancia activa que se inserta dentro de una película de material polimérico o graso, formando micropartículas, microesferas o microcápsulas con un diámetro aproximado de 5 a 300 micras (**Pedroza, 2002**). La microencapsulación es utilizada con el objetivo de proteger el contenido de la cápsula del entorno a su

alrededor y sus condiciones como humedad, pH y oxidación, además de alargar su vida útil (Esquivel et al., 2015).

Entre las sustancias que se microencapsulan se hallan las vitaminas, los minerales, colorantes, prebióticos, probióticos, sabores, nutraceúticos, antioxidantes, olores, aceites, enzimas, bacterias, perfumes, drogas e incluso fertilizantes (Parra, 2010). Y por supuesto, se pueden elaborar productos alimenticios o fármacos con características sensoriales y nutricionales superiores (A. Torres, 2009).

El secado por aspersión es un proceso al que se somete una solución líquida al ser atomizada en aire caliente para conseguir instantáneamente un polvo (Cardona et al., 2021). En dicha operación se mantienen temperaturas de 150 a 220°C, que propician que el proceso de evaporación sea rápido, luego de ello, la temperatura se reduce a 80 °C hasta 50 °C, y se obtiene un polvo fino de 10 a 50 µm o relativamente grande de 2 a 3mm de diámetro por ello comúnmente se utiliza para producir encapsulados de alimentos. (Hernández et al., 2016). El secado por aspersión es un proceso continuo que contempla varias etapas que se pueden resumir en la atomización, el contacto de gota con el aire caliente, la evaporación del agua y la separación del producto seco del aire húmedo (Gharsallaoui et al., 2007).

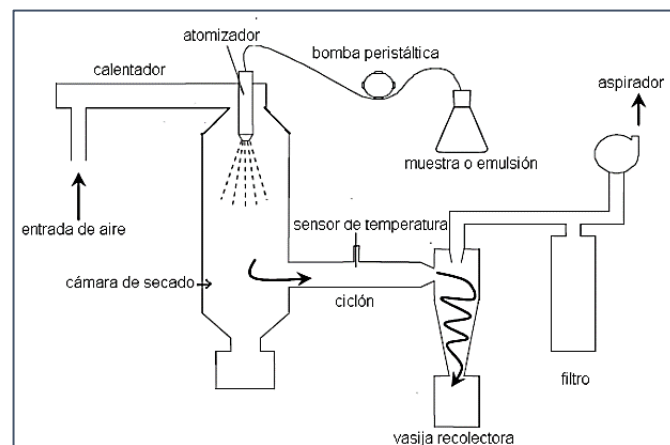


Figura 3. Diagrama básico de un secador por aspersión.

Fuente: (Castañeta, Gemio, Yapu, & Nogales, 2011).

Así también, varios factores inciden en la calidad del microencapsulado obtenido mediante secado por aspersión entre los que destacan las propiedades de la solución alimentada como viscosidad y velocidad de flujo; las condiciones como temperatura,

presión y flujo del aire de secado; el contacto entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado que puede sufrir un flujo en corrientes paralelas o contra corriente; así como el tipo de atomizador aplicado (**Ferrari et al., 2012**).

1.2 Objetivos:

1.2.1 Objetivo General

“Evaluar el potencial antioxidante del extracto de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze microencapsulado mediante secado por aspersión y su uso en la formulación de una bebida instantánea”.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Obtener un extracto microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze mediante secado por aspersión.
- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto microencapsulado por método *in vitro* (DPPH).
- Establecer una formulación para una bebida instantánea en polvo con el microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze.
- Analizar las características microbiológicas y sensoriales de la bebida instantánea en polvo.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Materiales, equipos y reactivos.

2.1.1 Materiales

- Material Vegetal: Frutos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze.
- Balón de aforo (100 ml)
- Vaso de precipitación (100 ml)
- Probeta plástica (100 ml)
- Micropipeta de 2-20 μ L
- Micropipeta de 100-1000 μ L
- Caja de puntas de 2-20 μ L
- Caja de puntas de 100-1000 μ L
- Tubos Eppendorf de 2 mL
- Varilla de vidrio
- Mortero
- Embudo filtración
- Crisol de porcelana
- Caja Petri de vidrio
- Pinza metálica
- Botella ámbar (500 ml)
- Placa (96 pocillos)
- Desecador
- Discos de Papel filtro
- Toallas de papel
- Placa Petrifilm para determinación de Coliformes
- Compact Dry para determinación de Mohos y Levaduras

2.1.2 Equipos

- Balanza analítica
- Estufa
- Mufla
- Deshidratador por convección
- Nevera

- Potenciómetro
- Refractómetro digital
- Balanza de Humedad
- Titulador potenciométrico
- Condensador de reflujo
- Plancha de calentamiento
- Rotavapor
- Centrífuga
- Mini Spray Dryer
- Espectrofotómetro Uv Visible
- Espectrofotómetro Infrarrojo

2.1.3 Reactivos

En la determinación de acidez titulable se utilizó:

- Agua destilada
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio (0,1 N)

En la extracción de compuestos bioactivos se utilizó:

- Agua destilada
- Etanol (30%)
- Etanol (50%)
- Etanol (70%)
- Etanol (96%)

En la microencapsulación se utilizó:

- Maltodextrina

En la evaluación de la capacidad antioxidante por método *in vitro* se utilizó:

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

En la cuantificación de Polifenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu se utilizó:

- Reactivo Folin–Ciocalteu
- Carbonato de Sodio
- Ácido Gálico

2.2 Métodos

2.2.1 Recolección de la planta

La recolección de los frutos maduros de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze (Anexo 2) se efectuó en el Cantón Quero, provincia de Tungurahua, en las siguientes coordenadas 01° 22' 35'' de Latitud Sur y 78° 36'21'' de Longitud Oeste, dicha materia vegetal se almacenó en frascos plásticos estériles a temperatura ambiente.

2.2.2 Preparación de fruto

Los frutos se limpiaron en seco, eliminando las impurezas, luego de ello, el material vegetal se sometió a deshidratación por un lapso de 24 horas a una temperatura de 140 F ó 60°C reduciendo así su humedad aproximadamente a 5.37 % (Anexo 3). Finalmente se trituró en una licuadora hasta tornarse en polvo fino (Elizondo et al., 2012).

2.2.3 Caracterización fisicoquímica del fruto

2.2.3.1 Determinación de pH

El pH de la muestra se registró utilizando un potenciómetro (METTLER TOLEDO), basado en la metodología expuesta en la Norma **INEN ISO 1842 (2013)**.

2.2.3.2 Determinación de sólidos solubles

Utilizando un refractómetro digital (ATAGO), se estableció el contenido de sólidos solubles (°Brix), método basado en la Norma **INEN ISO 2173 (2013)**.

2.2.3.3 Determinación de Acidez Titulable

El acidez titulable se determinó mediante la norma **INEN-ISO 750 (2013)**. Dado que se trata del fruto de *Margyricarpus Pinnatus* (Lam.) Kuntze, se efectuó la determinación con una preparación previa de la muestra. Para lo que se trituraron 25 gramos de la muestra que se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 ml esmerilado con 50 ml de agua caliente, y se mezclaron hasta homogenizar

completamente. Luego de ello se llevó la mezcla en el matraz esmerilado superpuesto en un condensador de reflujo y se calentó el contenido a baño maría hirviendo por 30 minutos. Posterior a ello, se enfrió y se colocó el contenido del matraz esmerilado a un matraz aforado de 250 ml agregando agua destilada hasta la marca de aforo, se mezcló hasta homogenizar y se filtró. Por último, con una pipeta se colocó 50 ml de la muestra de ensayo diluida en un matraz Erlenmeyer, se agregaron 2 ml de solución indicadora de fenolftaleína y un agitador magnético, e inmediatamente se colocará la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, hasta que en el potenciómetro registró un rango de pH entre 8.2 - 8.5, con el valor el volumen gastado se calculó la acidez titulable mediante la siguiente ecuación:

$$A = \left(\frac{250}{m} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0} \right) \times 0.064$$

Ecuación 1. Acidez Titulable.

Donde:

A= g de ácido Sulfúrico en 100 mL de producto

m= masa de la muestra (g)

V₁= Volumen gastado (ml)

c = Normalidad de hidróxido de sodio

V₀= volumen de la alícuota tomada para el análisis

Factor de conversión ácido cítrico= 0.064

(INEN-ISO 750, 2013)

2.2.4 Extracción de compuestos bioactivos

La base para la extracción de compuestos bioactivos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze, fue la técnica de **Abdel-Aal y Hucl (1999)**. Para el ensayo se preparó una solución de etanol a diferentes concentraciones (96%, 70%, 50%, 30%). Y se incorporó la muestra y solvente en una relación de 1:20 para 100

gramos de muestra deshidratada triturada. Luego de ello, para su homogenización se trasladaron todas las muestras con solvente a una plancha de calentamiento con agitación magnética por 1 hora hasta llegar a temperatura de ebullición, finalmente se filtraron y concentraron los sólidos en el rotavapor, de este proceso se obtuvo el extracto que se almacenó en botellas de vidrio ámbar en refrigeración (4 °C).

2.2.4.1 Determinación sólidos totales del extracto

A partir del valor de humedad del extracto de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze que arrojó la balanza de humedad (KERN), se procedió a calcular el porcentaje de sólidos totales mediante la ecuación que se detalla a continuación:

$$\% \text{ Sólidos Totales} = 100 - \% \text{ Humedad}$$

Ecuación 2. Sólidos Totales.

(Quinaluisa, 2018)

2.2.5 Microencapsulación por secado por aspersión

El proceso de microencapsulación se llevó a cabo a través del secado por aspersión de donde se obtuvo un polvo fino compuesto por microesferas que recubren los compuestos bioactivos de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze, para ello se empleó una relación 20:80 de extracto concentrado/matriz polimérica (maltodextrina), y agua destilada, dicha mezcla se agitó constantemente a 45 °C, hasta homogenizarla, y por último se llevó a secado por aspersión en un Mini Spray Dryer en condiciones controladas de presión (-50 mbar) y temperatura (entrada: 150 °C y salida: 90°C) controlada, obteniendo así el microencapsulado (**Ramos, 2019**).

2.2.5.1 Eficiencia del microencapsulado

La eficiencia del microencapsulado (extracto concentrado/matriz polimérica de maltodextrina) se verificó llevando por 10 minutos a agitación una mezcla de 1.5 gramos del microencapsulado y 15 ml de agua destilada, con lo que se determinó la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS. Luego de ello, se repitió el procedimiento empleando etanol al 70% en lugar de agua destilada, no obstante,

las cantidades se mantuvieron constantes. La ecuación con la que se efectuó el cálculo de la eficiencia se presenta a continuación:

$$\%EE = \frac{[H_2O] - [E_tOH]}{[H_2O]} * 100$$

Ecuación 3. Eficiencia del microencapsulado.

$\%EE$ = Eficiencia de microencapsulación, porcentaje en masa (%)

$[H_2O]$ = Concentración total presente en las microcápsulas (mg/L)

$[E_tOH]$ = Concentración superficial en las microcápsulas (mg/L)

(Telenchana, 2019)

2.2.6 Cuantificación de Polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

Se tomará como referencia a el autor **Vasco et al. (2009)** quien expone el método de Folin and Ciocalteu mismo que se fundamenta en la coloración azulada producida por la reacción de los fenoles con agentes oxidantes, que forman complejos fosfomolibdico- fosfotúngstico.

En primer lugar, se pesaron 0,1 g del microencapsulado diluido en 4 ml de agua destilada y se llevó a centrifugación (15 min a 4000 min⁻¹). Del centrifugado se tomaron 0.1 ml y se agregó el reactivo Folin–Ciocalteu en un valor de 0.1 mL, en un balón de aforo con capacidad de 5 ml, la reacción se accionó en aproximadamente 3 minutos, y se procedió a colocar 2 mL de solución de carbonato de sodio (75 g/l). Para finalizar, con agua destilada se completó el aforo del balón y se mantuvo en reposo al ambiente por un lapso de 1 hora. Se repitió el mismo procedimiento con una muestra de 0.1 ml de extracto.

La cuantificación de polifenoles se llevó a cabo mediante un espectrofotómetro UV Visible, cuyo rango de detección se estableció en 750 nm de longitud de onda,

por consiguiente, se precisó de la preparación de una curva de calibración previa, que se ejecutó con un stock de ácido gálico que registró concentraciones en un rango de 50 a 200 ppm, dicho ensayo se repitió por triplicado.

Finalmente, se calculó el contenido de fenoles totales del extracto y del microencapsulado, para lo que se tomó la ecuación de la recta correspondiente a la curva de calibración de ácido gálico, y se aplicó la ecuación que se presenta a continuación:

$$\text{Concentración } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = \frac{A * \text{intercepto}}{\text{pendiente}}$$

Ecuación 4. Cuantificación de Polifenoles totales.

(Vasco et al. , 2009)

2.2.7 Espectrofotometría Infrarroja

La espectroscopia infrarroja (espectroscopia IR) se utilizó con la finalidad de verificar los grupos funcionales que componen el extracto de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze sin encapsular, microencapsulado, y el polímero (maltodextrina) (Moreno, 2020).

2.2.8 Evaluación de la actividad antioxidante por método in vitro

La actividad antioxidante del extracto y microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze , se evaluó mediante la técnica de microplaca DPPH señalada por Figueroa (2020), que se basa en la interacción del DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracilo) de un electrón desapareado con el compuesto oxidante. En primera instancia se construyó una curva de calibración con solución madre de Trolox de 50-500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ que funcionó como un estándar para dicha determinación. Luego de ello, en una microplaca de 96 pocillos se agregaron 20 μL de la muestra diluida y 180 μL del compuesto DPPH (150 $\mu\text{mol L}^{-1}$), y se llevó a agitación por un lapso de 60 segundos, para luego reposar por 40 minutos a temperatura ambiente y en un lugar oscuro, posteriormente se midió la

absorbancia a una longitud de onda de 515 nm en un Espectrofotómetro UV Visible.

Y finalmente, se recurrió a la siguiente ecuación que determinó el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

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

Ecuación 5. Porcentaje de Inhibición DPPH.

Donde:

A_m: Absorbancia de la muestra

A_b: Absorbancia del blanco reactivo

A_c: Absorbancia de control

(Figueroa, 2020)

2.2.9 Elaboración de una bebida instantánea en polvo con el microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze

En términos generales la Norma Técnica Ecuatoriana **NTE INEN 2471 (2010)**, establece que una “mezcla en polvo para preparar bebidas instantáneas se define como un producto constituido por azúcares y/o edulcorantes autorizados, acidulantes, saborizantes, colorantes, con o sin adición de enturbiantes y otros ingredientes”. Por lo tanto, la bebida propuesta consistió en una mezcla de edulcorante, ácido cítrico, sal, sabor natural a manzana, aspartamo, color caramelo, acesulfame-k, sucralosa, citrato de potasio, sulfato tricalcico y como ingrediente activo fundamental el microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze, mismos que se pesaron y mezclaron hasta que se obtuvo un polvo homogéneo y se envasó en una presentación de 10 g (**Lincango, 2015**).

2.2.9.1 Determinación de las propiedades sensoriales de la bebida instantánea en polvo

La evaluación sensorial se efectuó del polvo y del producto reconstituido en agua, a través de una prueba de cata que se llevó a cabo por un panel de 12 integrantes, con edades entre 20 y 30 años. A cada panelista se le suministró una hoja de cata para que evalúe el color, olor, viscosidad, apariencia, sabor y grado de aceptación del producto mediante una escala hedónica desde el 1 al 5, en donde, 1 correspondería al me disgusta mucho y 5 al me gusta mucho (**Pacheco et al., 2004**). Dicha prueba de cata se efectuó en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, en donde se dispuso de la sala de cata. Es importante acotar que el análisis sensorial se aplicó únicamente en el producto formulado final.

2.2.9.2 Determinación de la calidad microbiológica de la bebida instantánea en polvo

Los análisis microbiológicos de la bebida se efectuó en base a la norma **NTE INEN 2471 (2010)** en la cual se presentan los requisitos microbiológicos para las bebidas instantáneas, cuyo cumplimiento se estableció en base al instructivo técnico para la determinación de *Escherichia coli*/Coliformes totales mediante Técnica Petrifilm de la AOAC Método Oficial 991.14 (**AOAC, 2015**) y el instructivo técnico para la determinación de Mohos/ Levaduras mediante Técnica Petrifilm de la AOAC Método Oficial 997.02 (**AOAC, 2017**), ambos métodos se llevaron a cabo tomando 10 gramos de bebida en polvo y 90 ml de agua peptonada, lo que a su vez se colocó en una bolsa Stomacher, en donde se mezcló por 30 segundos hasta su homogenización, luego de ello, se efectuaron las diluciones de 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} a partir de dicha muestra preparada. Seguidamente, se colocaron 1 ml de cada una de las diluciones antes mencionadas, en el centro de las placas petrifilm, y se procedió a incubar, de acuerdo con el microorganismo a identificar. De modo que para coliformes las condiciones de incubación fueron 24 h a 35 °C, para *E. coli* fueron 48 h a 35 °C. Por otro lado, para la detección de Mohos y Levaduras se incubaron las muestras por 5 días entre 21 °C y 25 °C.

Finalmente, para su identificación se tomó en cuenta que *E. coli* presenta únicamente colonias azules con gas y para el caso de coliformes se encuentran colonias rojas y azules con gas (AOAC, 2015).

Así también, las levaduras se diferencian fácilmente de los mohos en la placa, dado que las levaduras son típicamente indicadas por pequeñas colonias con apariencia abultada de color azul verdoso y bordes definidos. En contraste con los mohos que están indicados por grandes colonias de color variable (café, beige, naranja, azul verdoso), con bordes difusos, centro oscuro, y colonias de apariencia plana (AOAC, 2017).

Es importante acotar que el análisis microbiológico fue aplicado únicamente en el producto formulado final y no se efectuó ningún análisis microbiológico adicional en el tiempo de vida útil del producto.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. Análisis y discusión de los resultados

3.1 Caracterización fisicoquímica del fruto de *Margyricarpus pinnatus*

La recolección de los frutos maduros de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze se efectuó en el Cantón Quero, provincia de Tungurahua. Esta especie destaca por su capacidad de crecer de forma abundante en suelos pobres en nutrientes que generalmente suelen ser pedregosos o arenosos (BNDB, 2003), además sus frutos que presentan gran similitud a una perla o manzana en miniatura de color blanco rosáceo son muy llamativos para el consumo humano (Aguirre et al., 2014).

Este estudio contribuye con información acerca de la composición fisicoquímica del fruto de *M. pinnatus*, en ese sentido en la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos, los análisis se efectuaron en una muestra de los frutos maduros.

Tabla 4. Características fisicoquímicas de los frutos de *Margyricarpus pinnatus*

Parámetro	Valor
pH	5.99±0.00*
Sólidos Solubles (°Brix)	7.27±0.06*
Acidez Titulable (% Ácido Cítrico)	0.04±.00*
Humedad (%)	85.40±.0.02*

*Análisis realizados en materia fresca, con 3 réplicas en los Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología y en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL).

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

La familia Rosaceae está integrada por plantas dicotiledóneas pertenecientes al orden Rosales, y contempla a gran parte de especies de frutas que se consumen masivamente tales como manzana, pera, melocotón, ciruela, cereza, almendra, fresa, albaricoque, níspero, zarzamora, frambuesa, etc (Novara, 2012). *M. pinnatus* pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Rosoideae por poseer un carpelo, y su fruto es usualmente una drupa, tal como la frutilla salvaje (*Fragaria vesca*) y frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*), frambuesa (*Rubus idaeus*) y mora (*Rubus ulmifolius*) (UNNE, 2000).

De acuerdo con los resultados obtenidos *M. pinnatus* posee un 85.40±.0.02% de humedad, que se relaciona con especies de la misma familia Rosaceae, subfamilia Rosoideae que presentan una humedad que oscila entre el 85 al 90% (FAO, 2003). Este valor también significaría que el fruto de *M. pinnatus* tiene una alta humedad, cabe

mencionar que el contenido de humedad en un alimento es un indicador de estabilidad del producto, lo que a su vez es útil para formular un producto y evaluar las pérdidas durante el procesado. Así también servirá para prevenir el crecimiento de microorganismos y otras reacciones de deterioro químicas o enzimáticas indeseables, mantener su textura y consistencia (Díaz, 2009).

El pH y sólidos solubles (°Brix) aumentan de forma proporcional a la madurez en los frutos, mientras que la acidez titulable disminuye (Torres et al., 2013), dado que se tienen altos valores, en el pH con un 5.99 ± 0.00 , en sólidos solubles con 7.27 ± 0.06 °Brix y una acidez respectivamente baja con un 0.04 %, se podría inferir que los frutos de *M. pinnatus* se hallan en máximo estado de madurez, además de la coloración que presentan visiblemente Anexo 3B. En adición, particularmente en las frutas, el pH podría indicar la presencia de ácidos orgánicos, fenoles y ciertos aminoácidos, no obstante, se les atribuye la mayor parte de los iones hidrógeno a los ácidos orgánicos (Rosas, 2011).

3.2 Extracción de compuestos bioactivos de los frutos de *Margyricarpus pinnatus*

3.2.1. Obtención del extracto vegetal líquido

En la extracción se utilizaron diferentes concentraciones de etanol como disolvente en una relación 1:20 (muestra vegetal/disolvente) que optimiza la extracción de polifenoles (Rivas, 2020). La mayor concentración de polifenoles se obtuvo al utilizar etanol al 30% en la extracción, sin embargo la mayor actividad antioxidante se presentó al usar etanol al 70%, por lo que los datos obtenidos se analizaron mediante el programa GraphPad, con una prueba ANOVA y Tuckey (Anexo 4) que arrojó como resultado que no existe diferencia significativa en la concentración de polifenoles obtenida mediante el uso de etanol al 30 o 70 %, los valores obtenidos en relación a dichas concentraciones se hallan en la Figura 4.

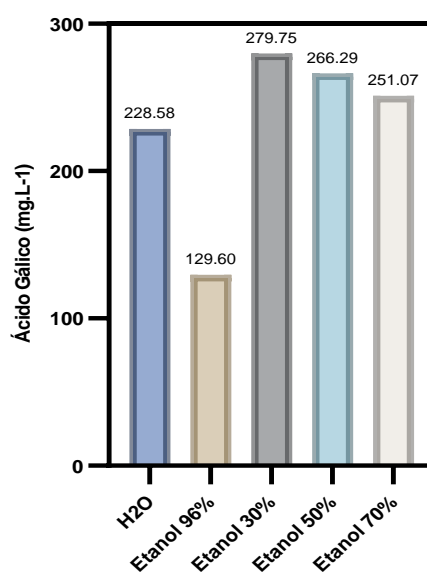


Figura 4. Concentración de Polifenoles Totales en el extracto de *M. Pinnatus*.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

Por tanto, se eligió disolvente etanol al 70% por presentar el más alto porcentaje de inhibición del radical DPPH y mayor actividad antioxidante, lo que se plasma en la Figura 5 y 6, respectivamente, y cuyo análisis si arrojó la existencia de una diferencia significativa entre muestras aplicadas (Anexo 5).

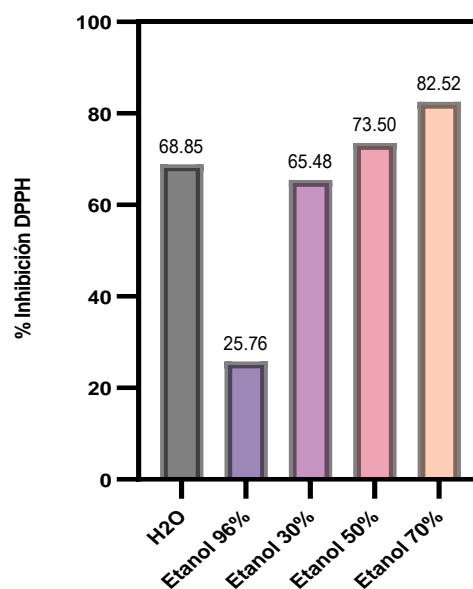


Figura 5. Porcentaje Inhibición DPPH en el extracto de *M. Pinnatus*.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

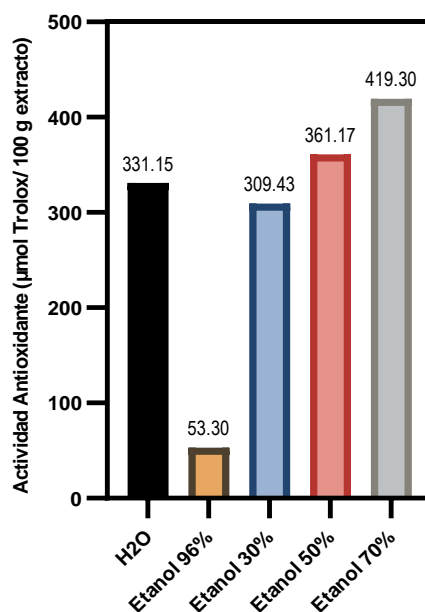


Figura 6. Actividad Antioxidante en el extracto de *M. Pinnatus*.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

De modo que al someter a *M. pinnatus* a la extracción de compuestos bioactivos, se emplearon 60 gramos de muestra en 1200 ml de etanol al 70%, y se siguió el protocolo de **Abdel-Aal y Hucl (1999)**, trasladando la muestra a una plancha de calentamiento por agitación magnética por una hora hasta alcanzar 78 °C, seguido de filtración y concentración en el rotaevaporador a una temperatura de 68 °C y presión de 230 rpm, obteniendo 43 mL de extracto concentrado total que registró un 43.09% de sólidos totales, logrando así eliminar en gran medida el disolvente.

Para proteger los compuestos bioactivos de interés a evaluar como son los polifenoles y la capacidad antioxidante de la oxidación y de reacciones indeseables, así como de condiciones adversas de luz a lo que presentan alta sensibilidad según **Esquivel et al. (2015)** el concentrado del extracto se reservó en una botella ámbar y en refrigeración.

3.3 Microencapsulación de polifenoles mediante secado por aspersión

La microencapsulación presenta beneficios importantes como la conservación de las propiedades funcionales de las matrices, en este caso la capacidad antioxidante de los polifenoles, al lograr proteger estos compuestos termolábiles y sensibles a cambios de

pH y así lograr la adsorción controlada en el intestino delgado de los individuos (**Gibbs et al., 1999**).

La microencapsulación se llevó a cabo a partir de una relación 20:80 que corresponde a la proporción de extracto concentrado y agente encapsulante (maltodextrina 10 DE), respectivamente. La maltodextrina se usa comúnmente como encapsulante en la industria de alimentos por su sabor neutro, alta solubilidad en agua, baja viscosidad a altas concentraciones además por su capacidad de preservar la muestra encapsulada de la oxidación y tiene un costo reducido (**Rios & Gil, 2021**).

La microencapsulación se realizó en el Mini Spray Dryer (BUCHI B-290) sometiendo a dicha operación la mezcla de extracto concentrado y maltodextrina, antes mencionada, homogenizada previamente a una concentración de 30% p/v; las condiciones de operación del equipo utilizado se establecieron en presión (-50 mbar) y temperatura (entrada: 150 °C y salida: 90°C) controladas para lograr la obtención del microencapsulado (**Ramos, 2019**).

3.3.1 Eficiencia del microencapsulado

Los autores **Rios & Gil (2021)** mencionan que al utilizar maltodextrina como agente encapsulante normalmente se espera una eficiencia que oscila 88% y 98%, en la Tabla 5 se presenta una eficiencia promedio de 88.97% lo que indicaría que el proceso fue exitoso. De acuerdo con **Liu et al. (2004)** las condiciones de operación influyen directamente en la calidad y eficiencia del microencapsulado, los parámetros críticos en el secado por aspersion son la temperatura de alimentación, la temperatura de entrada de aire, la velocidad de alimentación, así como la temperatura de salida de aire aunque este último está sujeto a las características del material a encapsular, sin embargo, **Gharsallaoui et al. (2007)** mencionan que para la microencapsulación de sabores la temperatura ideal de salida está entre 50 °C y 90 °C, en contraste con ello se tiene que las condiciones aplicadas en este ensayo no difieren significativamente de lo encontrado bibliográficamente. Así mismo cabe enfatizar que la temperatura de entrada del aire es directamente proporcional a la velocidad de secado de la microcápsula y al contenido final de agua, de forma que si dicha temperatura es alta

generaría evaporación y aparición de grietas en la membrana, lo que a su vez conduciría a una liberación prematura y degradación del ingrediente encapsulado (Otálora et al., 2015). Por otro lado, si la temperatura de entrada del aire es baja, la evaporación se reduce, dando lugar a microcápsulas de alta densidad, alto contenido de agua, mínima fluidez y que tienden a aglomerarse con facilidad (Cano et al., 2005).

La eficiencia de la microencapsulación por secado por pulverización es considerablemente alta en contraste con otros métodos, aunque no es 100 % efectiva, de ahí la relevancia de su cuantificación (Anandharamakrishnan, 2015). Así mismo Frascareli et al. (2012) corrobora que para la determinación de la eficiencia de microencapsulación se debe tener en cuenta la concentración del compuesto bioactivo inicial, determinar la concentración resultante en el núcleo de la microcápsula; y cuantificar el principio activo que se halla interactuando con el material encapsulante circundante, provocando que no se genere la protección esperada de manera efectiva, y precisamente todos estos parámetros se relacionan en la Ecuación 3 para el cálculo de la eficiencia del microencapsulado aplicado.

Tabla 5. Eficiencia de microencapsulación.

Réplica	Absorbancia (535 nm)		Concentración (mg/Kg)		Eficiencia (%)	Promedio
	Agua	Etanol 96%	Agua	Etanol 96%		
1	0.797	0.128	801.66	91.21	88.62	88.97
2	0.777	0.119	780.42	81.65	89.54	
3	0.800	0.135	804.85	98.64	87.74	
4	0.789	0.117	793.17	79.53	89.97	

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

3.3.2 Análisis de Espectrofotometría Infrarroja (FTIR-ATR)

La espectrofotometría infrarroja es una técnica utilizada para medir la absorción de la radiación cuando ésta pasa a través de una capa delgada de sustancia, en un rango de longitudes de onda, que comprenden tres regiones de infrarrojo como son cercano, medio y lejano. En efecto se trata de un ensayo de identificación por excelencia por su capacidad de distinción de sustancias con diferencias estructurales. La región entre 4000 a 400 cm^{-1} , es decir, el infrarrojo medio (MIR) es la más aplicada para la

identificación de compuestos, aunque también se puede utilizar para obtener datos cuantitativos, cabe mencionar, que el espectro de infrarrojo es único para cualquier compuesto químico (Mondragón, 2020).

El análisis de espectroscopía infrarrojo se ejecutó con la finalidad de identificar el grupo funcional que se presenta en muestras del extracto concentrado de compuestos bioactivos de *M.pinnatus*, a si también a la maltodextrina como agente encapsulante y al microencapsulado del extracto para identificar su funcionalidad. Las muestras fueron analizadas en un rango de frecuencia de 550 a 4000 cm^{-1} como se observa en la Figura 7.

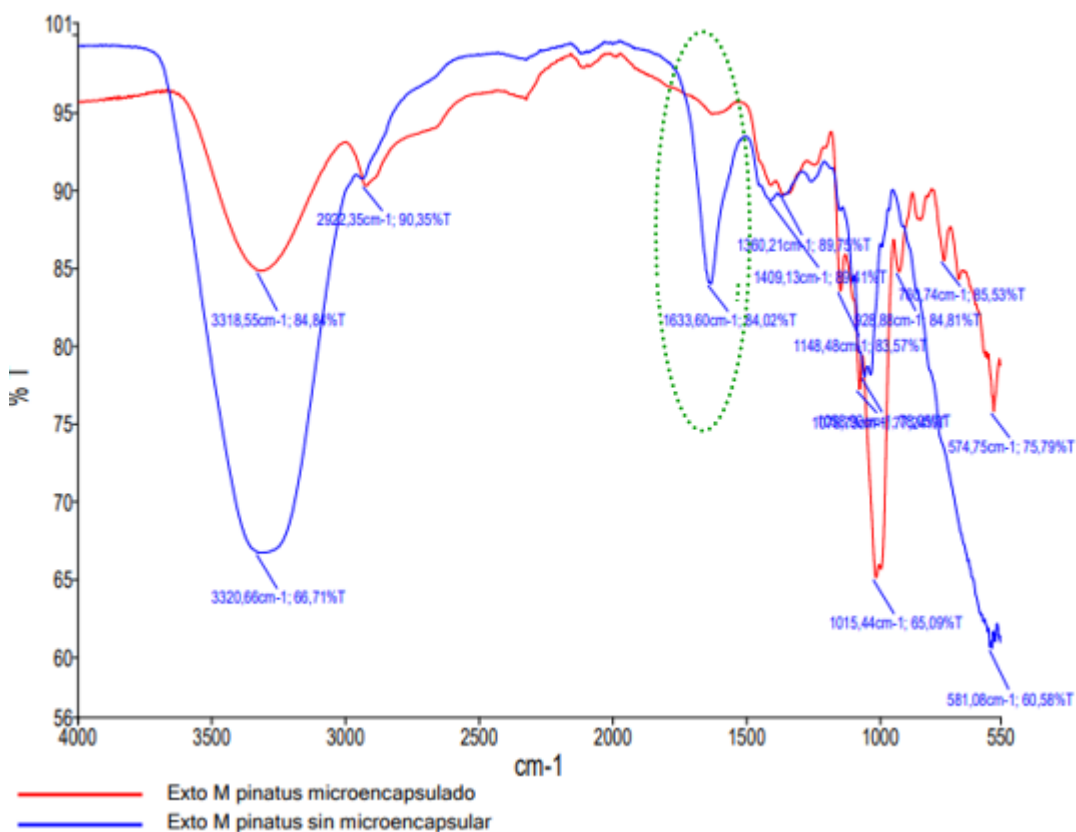


Figura 7. Espectroscopía infrarroja del extracto y microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus*.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

El espectro del extracto concentrado *M. pinnatus* (Nigua) en la figura 7 presenta un pico representado por el color azul a los 1633.60 cm^{-1} , que corresponde a un pico característico de los compuestos fenólicos, tal como señala Ortiz, (2018) en su estudio del mortíño que presenta picos entre 1200 y 1600 cm^{-1} , encontrándose en este rango

principalmente los ROH y los compuestos fenólicos. Además, no solo se observa la presencia de compuestos fenólicos sino que también se puede observar que al efectuar la microencapsulación del extracto a 1633.60 cm^{-1} el pico representado por rojo disminuyó significativamente su intensidad mostrándose casi imperceptible en el espectro, por lo que es concluyente que según **López et al. (2015)** la microencapsulación ha resultado efectiva.

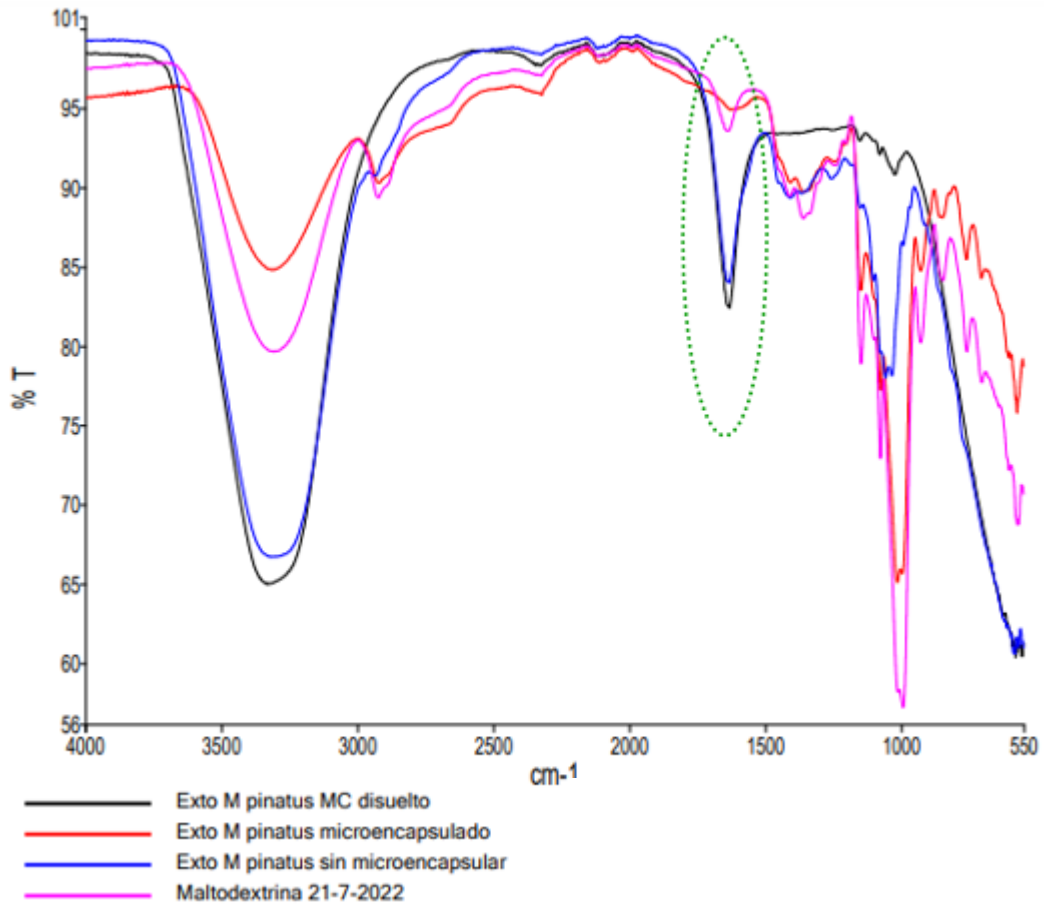


Figura 8. Espectroscopía infrarroja del extracto microencapsulado disuelto de *Margyricarpus pinnatus*.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

Para mayor detalle en la Figura 8, se plasman los espectros superpuestos de el extracto de *M. pinnatus*, el polímero utilizado en este caso maltodextrina y su microencapsulado en polvo y reconstituido en agua, en relación a ello, es interesante apreciar que en el espectro que el pico del extracto presentado en color azul concuerda exactamente con el pico del microencapsulado disuelto presentado en color negro, lo que significaría que el microencapsulado protege a los compuestos bioactivos en este

caso polifenoles del extracto ya que al disolverlo se presentan nuevamente, lo que se explica por la organización **MERCOSUR (2015)** que indica que cuando los ensayos por absorción infrarroja se aplican sobre una muestra resultante de la extracción a partir de una formulación, puede que no siempre exista una estricta concordancia con el espectro de referencia. Sin embargo, el espectro del material extraído y el espectro de referencia deberían alcanzar una similitud cercana.

3.4 Evaluación del potencial antioxidante del extracto y microencapsulado de *M. pinnatus*

Los datos obtenidos acerca del potencial antioxidante del extracto y microencapsulado de compuestos bioactivos de *M. pinnatus* se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Potencial antioxidante del extracto y microencapsulado de compuestos bioactivos de *M. pinnatus*.

MUESTRA	POLIFENOLES TOTALES (mg EAG/100 g)	% INHIBICIÓN DPPH	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (μ mol Trolox/ 100g muestra)
Extracto <i>Margyricarpus pinnatus</i>	251.07	82.52	419.30
Microencapsulado <i>Margyricarpus pinnatus</i>	235.28	78.11	390.87

*EAG: Equivalente de ácido gálico. Análisis realizados en los Laboratorios de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

3.4.1 Polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu del extracto y del microencapsulado

Al aplicar esta técnica colorimétrica que se fundamenta en la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo de Folin-Ciocalteu, que produce la aparición de un tono azul característico y se analiza mediante espectrofotometría (**Urbano, 2016**), como se explicó anteriormente, se cuantificaron la cantidad de polifenoles totales, que se expresan en su equivalente de ácido gálico, utilizados como estándares cuantitativos (**Ramírez, 2017**), para el efecto se construyó una curva de calibración que se muestra en la Figura 10, misma que relaciona la concentración de ácido gálico que va desde 50

mg . L⁻¹ hasta 1000 mg . L⁻¹ en el eje de abscisas y sus absorbancias respectivas leídas a 750 nm cuyos valores se ubican en el eje de las ordenadas.

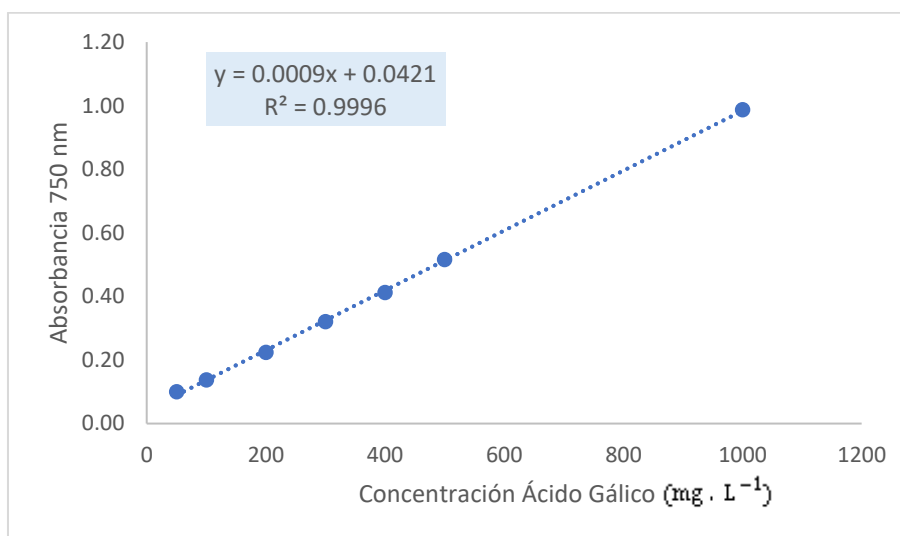


Figura 9. Curva de calibración ácido gálico.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

A *M. Pinnatus* se le atribuyen propiedades astringentes, cicatrizantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y antivirales relacionadas con compuestos biológicos activos específicamente los flavonoides en dicha especie (Martínez et al., 2015). A si mismo Sosa et al. (2007) evaluó la presencia de compuestos fenólicos, encontrando presencia de flavonoides, de manera semejante se tiene el estudio de Castañeda & Condori, (2010) que registra presencia de quinonas, polifenoles, flavonoides, leucoantocianidinas y saponinas en sus hojas y frutos; sin embargo, no se trata de estudios cuantitativos, si no netamente cualitativos, ya que no registran ningún valor específico.

En el presente estudio se determinó el contenido de polifenoles en el extracto de *M. pinnatus* registrándose 251.07 mg EAG/100 g y el microencapsulado con 235.28 mg EAG/100 g, valores reportados en la Tabla 6. Lo que se puede contrastar con especies como la frambuesa (*Rubus idaeus*) y zarzamora (*Rubus ulmifolius*) puesto que pertenecen a la familia Rosaceae, subfamilia Rosoideae tal como *M. pinnatus* (UNNE, 2000), en este contexto se tiene el estudio de Rubio et al. (2019), en donde reporta un contenido de polifenoles totales de 285.06 ±8.49 mg EAG/100 g para la especie zarzamora (*Rubus ulmifolius*), además realiza una comparación con especies comerciales detectando que las especies silvestres mostraron los valores más altos. De

manera semejante se tiene el estudio **Wang & Lin (2000)** en cultivos comerciales de zarzamoras que registraron valores de 204 a 248 mg EAG/100 g y en frambuesas (*Rubus idaeus*) de 208 a 267 mg EAG/100 g.

3.4.2 Actividad antioxidante por método in vitro del extracto y del microencapsulado de *M. pinnatus*

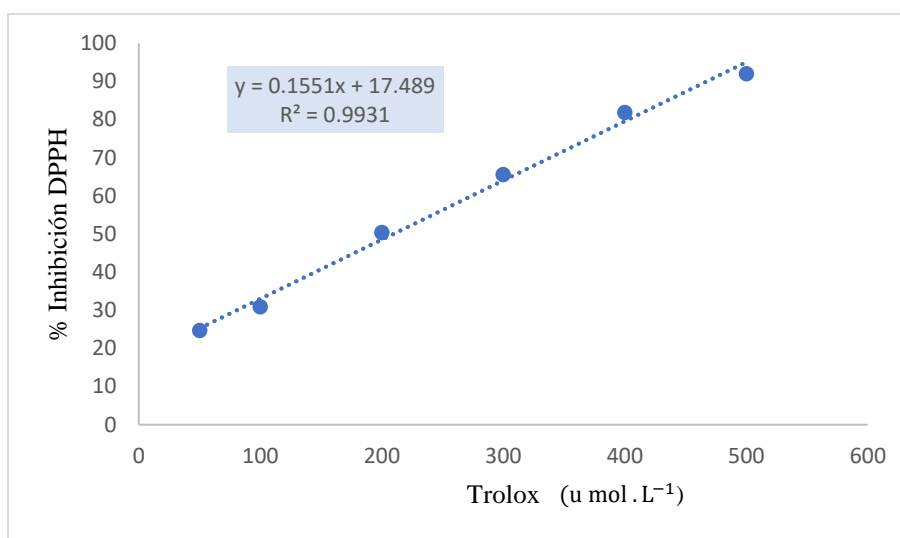


Figura 10. Curva de calibración de Trolox.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

Por poseer un carpelo, y su fruto es usualmente una drupa, tal como la frutilla salvaje (*Fragaria vesca*) y frutilla chilena (*Fragaria chiloensis*), frambuesa (*Rubus idaeus*) y zarzamora (*Rubus ulmifolius*)(UNNE, 2000)

En el presente estudio se determinó que el extracto de *M. pinnatus* posee un 82,52 % de inhibición del radical DPPH que corresponde a 419.30 μmol Trolox/100g muestra, en tanto que el extracto microencapsulado de *M. pinnatus* registró un 78.11 % de inhibición del radical DPPH que corresponde a 390.87 μmol Trolox/100g muestra, datos reportados en la Tabla 6.

La zarzamora (*Rubus ulmifolius*) perteneciente a la familia Rosaceae, subfamilia Rosoideae tal como *M. pinnatus*, a pesar de presentar frutos de mayor tamaño presentan menor actividad antioxidante con un máximo de 214,67 mg Trolox/ g Zarzamora en su máximo estado de maduración (**Borrego, 2018**), aspecto importante dado que *M. Pinnatus* también se hallaba en su máximo estado de maduración para los

análisis efectuados, cabe mencionar que el incremento en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante puede deberse a que durante la maduración incrementa la concentración de epicatequina, compuesto que tal como la catequina posee elevada capacidad antioxidante (**Rosas, 2011**).

Así mismo en el estudio de **Fredes (2009)** se evalúan las especies de frutilla silvestre europea (*Fragaria vesca*) que presentó 6,88 mg equivalentes Trolox/ 100 g, y la frutilla cultivada (*Fragaria xananassa*) que presentó 2,17 mg equivalentes Trolox/ 100 g, estos valores son muy inferiores a la actividad antioxidante obtenida en *M. pinnatus*.

La Tabla 6 muestra una diferencia mínima entre el extracto y el microencapsulado, lo que significaría que al microencapsular los polifenoles para su conservación, se puede conservar en gran medida la propiedad funcional atribuida a la capacidad de retardar los procesos oxidativos, consolidándose en la efectiva propiedad antioxidante del compuesto bioactivo microencapsulado (**Rios & Gil, 2021**).

3.5 Elaboración de una bebida instantánea en polvo con el microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze

De acuerdo con **Comesaña et al. (2001)** en la actualidad se promueve la importancia de una dieta saludable, clave para el bienestar y prevención de enfermedades en el ser humano. En respuesta a ello la ciencia y la industria continuamente se hallan en el descubrimiento de alimentos funcionales entre los que destacan los enriquecidos en polifenoles, estos alimentos son una realidad y cada día están más presentes en los estantes de los supermercados. De hecho, la EFSA (European Food Safety Authority) está continuamente monitoreando, las alegaciones nutricionales presentadas para el lanzamiento de nuevos productos alimenticios saludables, enriquecidos con polifenoles. afirma que la venta de bebidas funcionales se ha incrementado en un 25% durante el período 2019 al 2022 (**MARKET US, 2019**). Por las razones expuestas se eligió enriquecer una bebida en polvo, siendo el ingrediente activo los polifenoles de *M. pinnatus* (Nigua), que fueron extraídos y microencapsulados anteriormente.

Tabla 7. Formulación de la mezcla en polvo para preparar una bebida instantánea con la adición de polifenoles de *M. pinnatus* con sabor a manzana verde.

Ingredientes	%
Microencapsulado con maltodextrina	9.72
Ácido cítrico	3.00
Fosfato tricalcico	0.52
Sabor idéntico a la natural manzana	1.35
*Aspartamo	1.18
Citrato de potasio	3.00
*Acesulfame k	0.33
*Sucralosa	80.00
Color caramelo	0.30
Sal	0.60
TOTAL	100

*Datos obtenidos de Lincango (2015).

La funcionalidad de cada ingrediente en la bebida se detalla a continuación:

- **Microencapsulado con maltodextrina:** La maltodextrina se caracteriza por estar constituido por carbohidratos con distintos grados de polimerización, en la microencapsulación este aditivo permite la formación de polvos de libre flujo de tal forma que el sabor original del producto no se vea afectado o enmascarado (**Arteaga & Arteaga, 2016**). El microencapsulado de *M. pinnatus* se empleó para enriquecer la bebida con polifenoles como ingrediente activo y la proporción a utilizar se estableció tomando como referencia la norma **NTE INEN 2471 (2010)**.
- **Ácido cítrico:** Son reguladores de la acidez, son antioxidantes y produce cierto dulzor que potencia el sabor del producto, su dosis máxima es de 3000 mg/Kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).
- **Fosfato tricalcico:** Es un antihumectante que evita el apelmazamiento de las partículas de un producto en polvo ayudando a que fluyan fácilmente (**Badui, 2006**). La dosis máxima para este aditivo es de 1000 mg/kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).

- **Saborizante (sabor a manzana):** Se emplea para intensificar el sabor o aroma de la bebida, esta debe ser idéntico al natural, artificial o natural (**Badui, 2006**).
- **Aspartamo:** Es un edulcorante sintético de mayor poder endulzante que la sacarosa y no posee resabio amargo, su empleo está en bebidas y jugos como acentuadores de sabor (**Badui, 2006**). Su dosis máxima es de 600 mg/kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).
- **Citrato de potasio:** Es un regulador de la acidez que ayuda a controlar la alcalinidad o acidez del producto (**Lincango, 2015**).
- **Acesulfame k:** Es un acentuador del sabor cuyo poder edulcorante es 130 a 200 veces mayor en relación con la sacarosa, considerado un edulcorante sintético que no deja un resabio desagradable (**Badui, 2006**). La dosis es de 600mg/kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).
- **Sucralosa :** Es un edulcorante artificial que es entre 500 a 700 veces más dulce que la sacarosa, además de ser muy soluble en agua y estable bajo condiciones de proceso normales (**Durán Agüero et al., 2013**). La dosis máxima es de 300 mg/kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).
- **Color caramelo:** Colorante natural que aporta un ligero tono de color café, es empleado en refrescos o producto de la confitería (**Badui, 2006**). Su dosis máxima es de 5000mg/kg (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).
- **Sal:** Es utilizado como conservante y para enmascarar sabores desagradables haciendo que el alimento sea más sabroso, su dosis está basada según la buenas prácticas de fabricación (**NTE INEN-CODEX 192, 2013**).

Tabla 8. Resultados de los análisis fisicoquímicos de la bebida instantánea en polvo.

Parámetro	Requisito*	Valor Obtenido
pH (Producto reconstituido)	Máximo 4.20	3.54
Humedad (%) m/m	Máximo 5.00	3.20

*Requisitos establecidos por **NTE INEN 2471 (2010)**

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

Los resultados del análisis fisicoquímico de la bebida se observan en la Tabla 10, el valor de pH (3.54) y humedad (3.20) obtenidos no sobrepasan con los requisitos establecidos por la **NTE INEN 2471 (2010)**, el cual señala como límite máximo 4.20 en pH y 5 en humedad, esto evidencia que el producto fue elaborado de acuerdo a las buenas prácticas de fabricación. El contenido de humedad en la bebida instantánea es

estable por lo cual permite una mejor conservación del mismo y junto al pH controla la multiplicación de los microorganismos (NTE INEN 2471, 2010).

3.5.1 Análisis sensorial de la bebida instantánea en polvo

Tabla 9. Criterios de aceptabilidad

PUNTAJE	Grado de Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta poco
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta poco
5	Me gusta mucho

Fuente: Adaptado de Surco & Alvarado (2011).

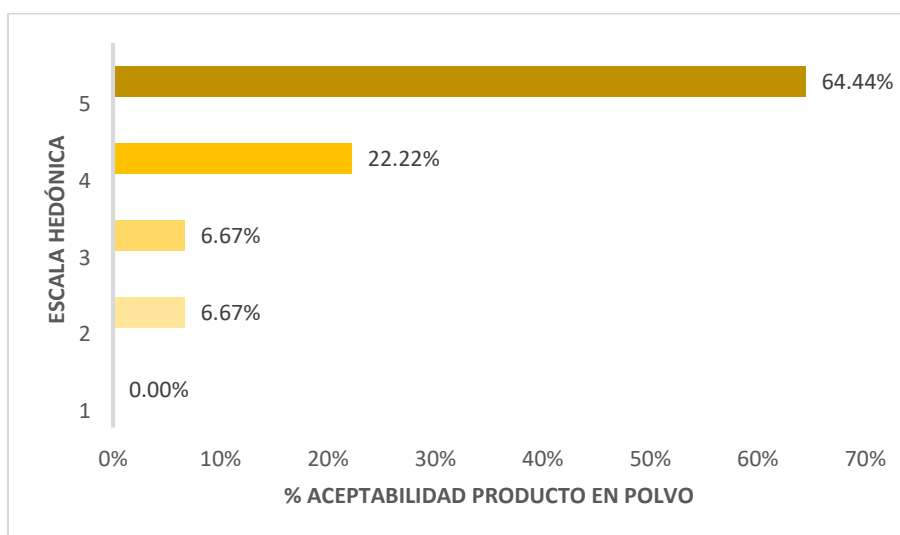


Figura 11. Resultados de la escala hedónica aplicada a los catadores de la mezcla de polvos.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

El análisis sensorial está ligada a la calidad del producto final, el cual nos da a conocer la aceptación de dicho alimento por parte del consumidor de acuerdo a su percepción a través de los sentidos (Osorio-Oviedo, 2019); el criterio de aceptabilidad para el producto en polvo dentro de una escala hedónica de 5 puntos el 64,44% de los catadores les gustó mucho y en menor cantidad el 6.67% señalaron que les disgustaba un poco o mostraban indiferencia, por lo que la aceptabilidad de la mezcla de polvos por parte de los jueces evidencia que dentro de sus atributos organolépticos como el color, olor y apariencia en general son adecuados de tal forma que no causa una apreciación negativa del producto.

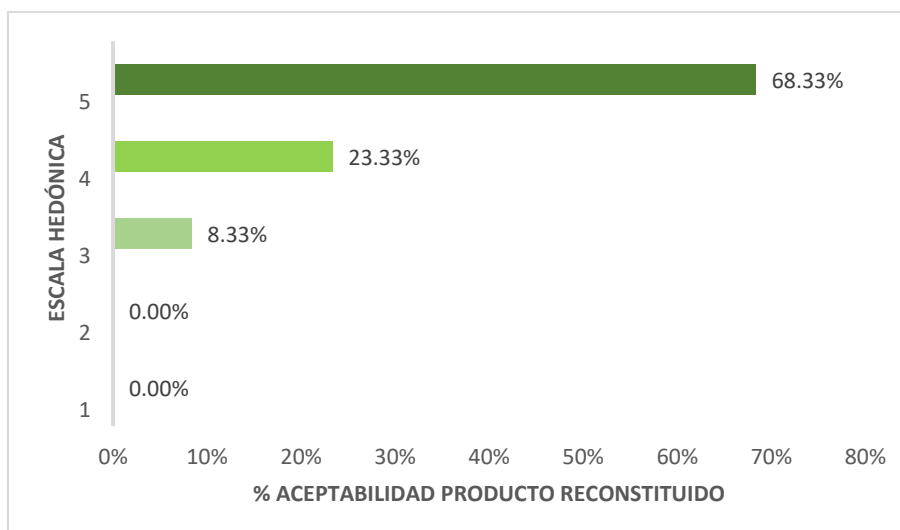


Figura 12. Resultados de la escala hedónica aplicada a los catadores del producto reconstituido en agua.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

La aceptabilidad del producto reconstituido en agua se muestra en la Figura 12, en el cual dentro de la escala hedónica de 5 puntos el 68.33% de los catadores calificaron al producto como “me gusta mucho” y tan solo el 8.33% señaló que “no me gusta ni me disgusta” por ende los atributos organolépticos del producto como el color, olor, sabor y apariencia a la hora de degustar la bebida son del agrado del consumidor, esto nos muestra que la bebida reconstituida por sus características sensoriales es atractiva a la vista de los jueces, por lo que a más de ser saludable genera un gusto agradable a la hora de consumirlo.

3.5.2 Análisis microbiológicos de la bebida instantánea en polvo

Tabla 10. Resultados de los análisis microbiológicos de la bebida instantánea en polvo.

Parámetro	Valor Obtenido
Coliformes	< 10 UFC/g *
<i>Escherichia Coli</i>	< 10 UFC/g *
Mohos	< 10 UFM/g *
Levaduras	< 10 UFL/g *

*Los resultados expresados por LACONAL.

Elaborado por: Leslie Pacheco N.

En la Tabla 12 se presentan los análisis microbiológicos aplicados a la bebida instantánea en polvo en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos LACONAL, para verificar el cumplimiento de la calidad microbiológica en el

producto se tomó como referencia la norma **NTE INEN 2471 (2010)**. El producto elaborado presento ausencia de coliformes y *Escherichia Coli*, pues estos microorganismos muestran una coloración roja y azul respectivamente, lo que nos da a entender que las condiciones higiénicas en donde se elaboró el producto fueron adecuadas evitando la contaminación durante el proceso de producción (**Apaza, 2011**). Para mohos y levaduras la bebida no presento contaminación alguna, lo cual puede deberse a la concentración de azúcares y a la acidez que presenta dicho producto, además el contener conservantes ayuda a la conservación de la bebida aumentando su vida útil y retardando el crecimiento microbiano (**Fernández et al., 2013**).

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Los frutos de *M. pinnatus* presentaron alta actividad antioxidante, en contraste con otras especies de la familia Rosaceae, lo que puede deberse a condiciones extrínsecas como la ubicación geográfica, al clima y al suelo en el que se desarrolla, convirtiéndose en una nueva alternativa en la industria alimentaria.
- La caracterización fisicoquímica realizada a los frutos de *M. pinnatus* reportó: 5.99 ± 0.00 de pH, 0.04 ± 0.00 % acidez (expresado en ácido cítrico), 7.27 ± 0.06 °Brix y una humedad del 85.40 ± 0.02 %, esta información es útil como un indicador de estabilidad del fruto si se requiere formular un producto, aunque también es apta para su consumo en estado fresco.
- Para la obtención del extracto microencapsulado de *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze mediante secado por aspersion, se utilizaron diferentes concentraciones de etanol como disolvente en una relación 1:20 (muestra vegetal/disolvente). De donde se optó por escoger el solvente en el que el extracto presento mayor actividad antioxidante, es decir, etanol al 70%.
- El extracto de compuestos bioactivos del Nigua posee un contenido de 43.09% de sólidos totales. El microencapsulado del extracto se realizó con maltodextrina 10 DE, en una proporción 20:80, obteniendo una eficiencia de microencapsulación de 88.97%. A su vez se verificó mediante espectroscopía infrarroja FTIR-ATR, la existencia de polifenoles en el extracto de *M. pinnatus*, y en el extracto microencapsulado disuelto en agua, lo que refleja con mayor precisión el grado de protección que ofrece el microencapsulado. Los datos expuestos evidencian que el extracto microencapsulado es rico en polifenoles.
- La actividad antioxidante evaluada mediante el método DPPH arrojó como resultados un contenido de $419.30 \mu\text{mol Trolox} / 100\text{g}$ de extracto y $390.87 \mu\text{mol Trolox} / 100 \text{ g}$ extracto microencapsulado, así como un contenido de

polifenoles, igual a 251.07 mg EAG/100g de extracto y 235.28 mg EAG/100g de extracto microencapsulado, por tanto, existe una diferencia mínima entre el extracto concentrado y el extracto microencapsulado lo que indica que se puede conservar en gran medida la propiedad funcional atribuida a la capacidad de retardar los procesos oxidativos, consolidándose en la efectiva propiedad antioxidante del compuesto bioactivo microencapsulado, que cumple un rol importante en la prevención de enfermedades degenerativas y cardiovasculares.

- El extracto microencapsulado de polifenoles se integró a la composición de la bebida instantánea con un contenido de polifenoles igual a 235.28 mg EAG/100g de extracto microencapsulado, que presenta un 78.11% de inhibición del radical DPPH, lo que corresponde a un valor de 390,87 μmol Trolox/100 g extracto microencapsulado, con la finalidad de enriquecer dicha bebida otorgándole potencial antioxidante. El polvo instantáneo de la bebida se sometió a análisis de humedad obteniendo un valor de 3.20% y un pH de 3.54 en el producto reconstituido, dichos valores se hallan en el rango establecido como requisito en la norma NTE INEN 2471:2010, tanto fisicoquímicos, como microbiológicos. Además, el análisis sensorial, obtuvo una aceptabilidad del 68.33 % y 64.44% para el producto en polvo y reconstituido, respectivamente.

4.2 Recomendaciones

- Determinar la concentración de flavonoides existente en *M. pinnatus* por presentar varios estudios que avalan su presencia en dicha especie.
- Determinar la eficiencia de la microencapsulación de *M. pinnatus* con una mezcla de maltodextrina y goma arábiga en diferentes proporciones.
- Elaborar un estudio de la estabilidad de la bebida en función del tiempo.
- Elaborar nuevos productos funcionales utilizando los frutos de *M. pinnatus*.

C. MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Abdel-Aal, E. S., & 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>
- Aguirre, Z., Yaguana, C., & Merino, B. (2014). Planta y flor de la perilla *Margyricarpus pinnatus*. En *Plantas medicinales de la zona andina de la provincia de Loja* (Primera, pp. 148-149). https://www.researchgate.net/profile/Zhofre-Aguirre/publication/301200536_Plantas_medicinales_de_la_zona_andina_de_la_provincia_de_Loja/links/570bc8fe08ae8883a1ffd8da/Plantas-medicinales-de-la-zona-andina-de-la-provincia-de-Loja.pdf
- Anandharamakrishnan, C. (2015). *Spray drying techniques for food ingredient encapsulation*. John Wiley & Sons. <https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=DAueCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP14&dq=C.+Anandharamakrishnan%3B+S.+P.+Ishwarya,+Spray+Drying+Techniques+for+Food+Ingredient+Encapsulation,+Mod&ots=jD8P2W8rpK&sig=OI8RZok3WyExZFJrto0rv5q6BEg#v=onepage&q&f=false>
- AOAC. (2015). *Instructivo técnico para recuento de Coliformes y E. Coli mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 991.14*. <https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/it-lab-16-v02.pdf>
- AOAC. (2017). *Guía de interpretación de Recuento de Mohos y Levaduras*. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1624089O/3m-petrefilm-placas-hongos-y-levaduras-ym-guia-de-interpretacion.pdf>
- Apaza, P. (2011). *Determinación de Coliformes totales, aerobios mesófilos, mohos y levaduras en el control de calidad de bebidas y derivados lácteos*. Universidad Mayor de San Andrés.
- Arroyo, P., Mazquiaran, L., Rodriguez, P., Valero, T., Ruiz, E., Ávila, J., & Valera, G. (2018). Frutas y hortalizas: Nutrición y Salud en la España del S. XXI. En *Fundación Española de la Nutrición (FEN)*. <https://www.fesnad.org/resources/files/Noticias/frutasYHortalizas.pdf>
- Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in powder of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 191-200. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05>
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos* (4.ª ed.). PEARSON EDUCACIÓN. <https://itscv.edu.ec/wp-content/uploads/2019/06/QUIMICA-DE-LOS-ALIMENTOS-4ta-Edicion.pdf>
- Balslev, H., Navarrete, H., Torre, L., & Macía, M. (2009). Uso de plantas en la alimentación en el Ecuador. En *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador*. [https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/47330/de la Torre et al.](https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/47330/de%20la%20Torre%20et%20al)

2008 Encyclopedia of useful plants of Ecuador.pdf

- Benítez, A., Villanueva, J., González, G., Alcántar, V., Puga, R., & Quintero, A. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1-9. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- BNDB, B. N. de D. de B. del E. (2003). *Margyricarpus pinnatus* Kuntze. <https://bndb.sisbioecuador.bio/bndb/taxa/index.php?taxon=776927>
- Borrego, C. (2018). *Evolución de compuestos de interés biológico en moras a lo largo de la maduración del fruto*. <http://hdl.handle.net/10498/21185>
- Cano, M., Stringheta, P., Ramos, A., & Cal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(4), 420-428. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003>
- Cardona, D., Patiño, L., & Ormaza, Á. (2021). Aspectos tecnológicos de la microencapsulación de compuestos bioactivos en alimentos mediante secado por aspersión. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22. https://doi.org/https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num1_art:1899
- Castañeda, G., & Condori, E. (2010). *Catálogo y estudio farmacognóstico de plantas medicinales del distrito de Llacanora*. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/1620>
- Castañeta, H., Gemio, R., Yapu, W., & Nogales, J. (2011). Microencapsulacion un metodo para la conservacion de propiedades fisicoquimicas y biologicas de sustancias quimicas. *Revista Boliviana de Quimica*, 28, 135-140. <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339676015.pdf>
- Ciganda, C., & Laborde, A. (2003). Herbal infusions used for induced abortion. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 41(3), 235-239. <https://doi.org/10.1081/CLT-120021104>
- Comesaña, M., García, M., López, M., & Simal, J. (2001). Bebidas Enriquecidas Con Vitaminas Antioxidantes. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(3), 173-179. <https://doi.org/10.1080/11358120109487726>
- Cordero, S., Abello, L., & Galvez, F. (2017). *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze. En *Plantas silvestres comestibles y medicinales de Chile y otras partes del mundo*. (pp. 85-86). https://ecoachibueno.cl/libros/guia-de-campo_plantas-silvestres-comestibles-y-medicinales-de-chile-y-otras-partes-del-mundo1.pdf
- Creus, E. V. A. G. (2004). *Compuestos fenólicos*. 23, 80-84. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508>
- Díaz, R. (2009). *Conservacion de los alimentos* (F. Varela (ed.); Félix Vare). Félix Varela. <https://elibro.net/es/lc/uta/titulos/71247>
- Durán Agüero, S., Córdón A., K., & Rodríguez N., M. del P. (2013). Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. *Revista Chilena de Nutricion*, 40(3), 309-314. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182013000300014>

- Elejalde, J. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18(6), 326-335. <https://doi.org/10.4321/s0212-71992001000600010>
- Elizondo, J., Castillo, H., Torres, L., Loera, J., Palemón, A., & Almeyda, I. (2012). *Muestreo y análisis de material vegetal*. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/931.pdf>
- Esquivel, B., Ochoa, L., & Rutiaga, O. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (REDALYC)*, 16, 180-192. <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>
- FAO. (2003). Condiciones de almacenamiento óptimo para las principales especies de frutas y hortalizas. En *Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas*. <https://www.fao.org/3/y4893s/y4893s06.htm>
- Fernández, M., Villaño, D., Troncoso, A., & García, C. (2013). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. *ALAN*, 36. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000200002
- Ferrari, C., Marconi, S., & De Aguirre, J. (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>
- Figuerola, J. (2020). *Microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (Hylocereus undatus)*. [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30832/1/BQ_218.pdf
- Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3), 413-424. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002>
- García, A., Quijano, C., Morales, G., & Pino, J. (2009). Composition of the essential oil from leaves and fruits of *margyricarpus pinnatus* (lam.) o. kuntze grown in colombia. *Journal of Essential Oil Research*, 21(6), 547-549. <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700240>
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. *Etsiamn*, 9. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia Martínez et al.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia_Martínez_et_al.pdf?sequence=1)
- García, E., Oldoni, T., Cadorin, Alencar, S., Reis, A., Loguercio, A., & Miranda, R. (2012). Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth. *Braz Dent*, 295, 1168-1175. <https://doi.org/10.1056/nejm197611182952105>
- García, N. (2011). *Plantas Nativas Empleadas en Alimentación* [Instituto Alexander Von Humboldt].

<http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/31275/11-11-020-240PS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Gibbs, B., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. (1999). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), 213-224. <https://doi.org/10.1080/096374899101256>
- Greenfield, H., & Southgate, D. a. T. (2006). Datos de composición de alimentos. En *Datos de composición de alimentos*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <https://www.fao.org/3/y4705s/y4705s.pdf>
- Gutiérrez, Á., Ledesma, L., García, I., & Grajales, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1), 1-7. <https://doi.org/10.1590/s0864-34662007000100008>
- Hernández, C., Iliina, A., Ventura, J., Martínez, J. L., Belmares, R., Contreras, J., & Michelena, G. (2016). La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (REDALYC)*, 50(1), 12-19. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420003.pdf>
- Instituto de Botánica Darwinion (IBODA). (2000). *CATÁLOGO DE LAS PLANTAS VASCULARES DE ARGENTINA*. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze. <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=&especie=pinnatus&genero=Margyricarpus&espcod=10797>
- Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (2020). *Herbario Virtual para el Conocimiento y Conservación de la Flora e Funga do Brasil*. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze. <https://www.gbif.org/es/species/3030248>
- Jorgensen, P. M., & León-Yáñez, S. (1999). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. En *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* (Vol. 75). Missouri Botanical Garden. <http://legacy.tropicos.org/Name/27801685?projectid=2>
- Jørgensen, P., & Ulloa, C. (1994). *Catálogo de las Plantas Vasculares del Ecuador*. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze. <http://legacy.tropicos.org/Name/27801685?projectid=2>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Lincango, K. (2015). *Optimización Económica en la formulación de una bebida en polvo* [Universidad Central de Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5980/1/T-UCE-0017-0148.pdf>

- Liu, Z. Q., Zhou, J. H., Zeng, Y. L., & Ouyang, X. L. (2004). The enhancement and encapsulation of Agaricus bisporus flavor. *Journal of Food Engineering*, 65(3), 391-396. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.01.038>
- Londoño, J. (2013). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad* (pp. 129-162). http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9_129-162.pdf
- López, O., Turiño, L., & Nogueira, A. (2015). Microencapsulación de sabores mediante secado por aspersión. *Alimentos, Ciencia e Investigación*, 23(1), 65-69. [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/14242/1/López et al. %282015%29_ACI-23%281%2965-69.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/14242/1/López_et_al._%282015%29_ACI-23%281%2965-69.pdf)
- MARKET US. (2019). *Mercado global de polifenoles por tipo (manzanas, té verde y semillas de uva), por aplicación (alimentos funcionales, bebidas funcionales y suplementos dietéticos), por región y empresas clave: perspectiva del segmento de la industria, evaluación del merc.* <https://market.us/report/polyphenols-market/>
- Martínez-Navarrete, N., Camacho, M., & Martínez-Lahuerta, J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 12(2), 64-68. [https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Martinez, G. C., Gerardo Pellerano, R., Del Vitto, L. A., Matilde Mazza, S., & Marchevsky, E. J. (2015). Concentraciones de elementos minerales en partes aéreas e infusiones de Margyricarpus pinnatus (Lam.) Kuntze (perla). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20, 5. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000300001&nrm=iso
- Martínez, G., Pellerano, R., Vitto, L. Del, Mazza, S., & Marchevsky, E. (2015). Concentraciones de elementos minerales en partes aéreas e infusiones de Margyricarpus pinnatus (Lam.) Kuntze (perlilla). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(3), 253-264. <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/222/129>
- Mercado, G., Carrillo, L., Wall, A., López, J., & Álvarez, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutricion Hospitalaria*, 28(1), 36-46. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>
- MERCOSUR. (2015). *FARMACOPEA MERCOSUR: ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJO*. http://www.sice.oas.org/trade/mrcsrs/resolutions/res_011_2015_s.pdf
- Mesa, A., Gaviria, C., Cardona, F., Sáez, J., Blair, S., & Rojano, B. (2010). Antioxidant activity and total phenols content from some species of Calophyllum genus. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2), 13-26. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200003
- Mondragón, P. (2020). Capítulo 1. Infrarrojo. En *Principios y aplicaciones de la*

espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas (Vol. 1). D.R. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C (CIATEJ). https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625

- Moreno, L. (2020). *Extracción y microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante y antiinflamatoria obtenidas a partir de fréjol rojo (Phaseolus vulgaris L.)* [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30838/1/BQ_224.pdf
- Muñoz, F., & Navarro, C. (2010). LXXXVII. CAPÍTULO ROSACEAE. En *Flora Ibérica* (p. 5). http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/06_087_ROSACEAE.pdf
- Nossa, D., Talero, Y., & Rozo, W. (2016). Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos polares de comfrey (*Symphytum officinale* L). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 125-132. <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n2/pla01216.pdf>
- Novara, J. . (2012). Aportes botánicos de Salta. *Herbario Mdns*, 2, 1-53. <http://eprints.natura.unsa.edu.ar/293/1/ROSACEAE.pdf>
- NTE-INEN-ISO 750. (2013). *Norma Técnica Ecuatoriana: Productos vegetales y de frutas - Determinación de la acidez titulable (IDT)*. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_750_extracto.pdf
- NTE INEN-CODEX 192. (2013). Norma General Del Códex Para Los Aditivos Alimentarios (Mod). *Servicio Ecuatoriano de Normalización*, 317.
- NTE INEN-ISO 2173. (2013). *Norma Técnica Ecuatoriana: Productos vegetales y de frutas. Determinación de sólidos solubles. Método Refractométrico*. <https://silo.tips/download/quito-ecuador-norma-tecnica-ecuatoriana-nte-inen-iso-21732013-extracto>
- NTE INEN 1842. (2013). *Norma Técnica Ecuatoriana: Productos vegetales y de frutas, determinación de pH*. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_1842_extracto.pdf
- NTE INEN 2471. (2010a). Mezcla en polvo para preparar refrescos. Requisitos. *Norma Técnica Ecuatoriana*, 3.
- NTE INEN 2471. (2010b). *Norma Técnica Ecuatoriana: Mezclas en polvo para preparar refrescos o bebidas instantáneas. Requisitos*. https://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_2471.pdf
- Orrego Escobar, E. (2013). Plants with antiviral activity. *Medwave*, 13(10), 4. <https://doi.org/10.5867/medwave.2013.11.5854>
- Ortiz, J. (2018). *Obtención de un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de*

la pulpa de mortiño.
https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27310/1/AL_662.pdf

- Osorio-Oviedo, Á. A. (2019). Pruebas de análisis sensorial para el desarrollo de productos de cereales infantiles en Venezuela. *Ciencias y Tecnología*, 13(2), 27-37.
- Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Nazareno, M. A., & Osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 187, 174-181.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.090>
- Pacheco, E., Pérez, R., & Schnell, M. (2004). Evaluación nutricional y sensorial de polvos para bebidas a base de papaya, plátano verde y salvado de arroz. *Interciencia*, 29. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442004000100012
- Padilla, F., Rincón, A., & Bou, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(3), 303-308. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2008/3/art-14/#>
- Parra, R. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos Food Microencapsulation: A Review. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 63(2), 5669-5684. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a20v63n01.pdf>
- Paucar, S. (2021). *Efecto de solvente y tiempo en el rendimiento de extractos totales de partes aéreas de Margyricarpus pinnatus (Lam.) Kuntze y Minthostachys mollis Griseb* [Universidad Central del Ecuador]. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23237/1/UCE-FCQ-PAUCAR_SOFIA.pdf
- Pedroza, R. (2002). Alimentos Microencapsulados : Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos. *Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 10. https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A26.pdf
- Peñafiel, M. (2003). *Margyricarpus Pinnatus (Lam.) Kuntze*. En *Flora y Vegetación de Cuicocha* (pp. 41-42). https://digitalrepository.unm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1280&context=ab_ya_yala
- Quinaluisa, D. (2018). *Microencapsulación de componentes bioactivos de pulpa de arazá (Eugenia stipitata) mediante secado por aspersion* [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28455/1/AL_690.pdf
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria.Instituto de Investigación en Ciencias de Alimentación*, 25(1), 329-334. https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revisión_08.pdf
- Ramírez, A. (2017). *Efecto de los frutos de Acacia farnesiana en la dieta caprina :*

- presencia de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la leche. November,* 142.
https://www.researchgate.net/publication/320673651_Efecto_de_los_frutos_de_Acacia_farnesiana_en_la_dieta_caprinapresencia_de_compuestos_bioactivos_y_actividad_antioxidante_de_la_leche
- Ramos, E. (2019). *Extracción y Microencapsulación de antocianinas a partir de col morada (Brassica oleracea L.)* [Universidad Técnica de Ambato].
https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29999/1/BQ_192.pdf
- Rapoport, E. H. (2007). *Cuántas especies comemos y cuántas existen.*
http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/27759/Documento_completo.pdf?sequence=1
- Repo, R., & Encina, C. (2008). Determinación De La Capacidad Antioxidante Y Compuestos Bioactivos De Frutas Nativas Peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú,* 2, 108-124.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937609004>
- Rioja, A. (2018). DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL, FENOLES TOTALES, Y LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN UNA BEBIDA NO LÁCTEA EN BASE A GRANOS DE CHENOPODIUM QUINOA. *Revista Boliviana de Química,* 35, 168-176.
<https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213006/html/>
- Rios, S., & Gil, M. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. *TecnoLógicas,* 24(51).
<https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Rivas, P. (2020). OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE VAINA DE TARA Y SU ESTABILIZACIÓN POR MICROENCAPSULACIÓN PARA EL DESARROLLO DE UN INGREDIENTE ANTIOXIDANTE NATURAL [Universidad de Chile]. En *CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS.*
<https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/175286/Optimizacion-de-la-extraccion-de-polifenoles-de-vaina-de-tara-y-su-estabilizacion-por-microencapsulacion.pdf?sequence=1>
- Rodríguez, O., Andrade, W., & Diaz, F. (2016). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología,* 14(2), 21-36. <https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1868>
- Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sanchez, P., & Marticorena, A. (2018). *Catálogo de las plantas vasculares de Chile.* *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze.
<http://catalogoplantas.udec.cl/?q=node/5157>
- Rosas, C. (2011). Contenido de compuestos bioactivos y su contribución a la capacidad antioxidante durante la maduración de piña cv. “Esmeralda”. En *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.*
https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/179/1/Rosas_Dominguez_2011_MC.pdf

- Rubio, E., Pérez, R. E., Ávila, T., Gómez, J., & García, P. (2019). Propiedades fisicoquímicas de frutos silvestres de Rubus con potencial nutracéutico y alimenticio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 23, 291-301. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2028>
- Solomon, J. (2014). *Catálogo de las Plantas Vasculares de Bolivia*. *Margyricarpus pinnatus* (Lam.) Kuntze. <http://legacy.tropicos.org/Name/27801685?projectid=13&langid=66>
- Sosa, A., Fusco, M., Petenatti, M., Juárez, A., Vitto, L. Del, & Petenatti, E. (2007). Estudios Farmacognósticos y Farmacológicos Comparativos Sobre Tres Especies Diuréticas De Amplio Uso Popular En El Centro-Oeste Argentino. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 6(6), 386-387. <https://www.redalyc.org/pdf/856/85617472036.pdf>
- Surco, J., & Alvarado, J. (2011). Estudio Estadístico De Pruebas Sensoriales. *Revista Boliviana de Química*, 28(2), 79-82. <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339676005.pdf>
- Telenchana, E. (2019). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de antocianinas microencapsuladas a partir de cáscaras de berenjena (Solanum melongena)* [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30541/1/BQ_204.pdf
- Torres, A. (2009). *Microencapsulación* (pp. 7-8). Universidad Complutense de Madrid. https://www.ucm.es/data/cont/docs/1334-2017-05-03-aitorres1_MICROENCAPSULACION_IM.pdf
- Torres, R., Montes, E., Pérez, O., & Andrade, R. (2013). Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Informacion Tecnológica*, 24(3), 51-56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Tovar, J. (2013). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH Y ABTS DE 30 PLANTAS RECOLECTADAS EN LA ECOREGION CAFETERA* (Vol. 53, Número 4) [UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA]. <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/28bb3599-16cd-4c41-9c48-0a0dc4a9b5e2/content>
- UNNE. (2000). Familia Rosaceae. En *Guia de consulta diversidad vegetal. FACENA* (Vol. 1, pp. 190-204). <https://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Rosideas/Eurosides I/3-Clado de los fijadores de Nitr%F3geno/4-Rosales/4-Rosaceae.pdf>
- Urbano, C. (2016). *VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN PRODUCTOS ELABORADOS CON TÉ VERDE POR MÉTODO COLORIMÉTRICO FOLIN CIOCALTEU*.
- Valencia, E., Figueroa, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M. (2017). Polyphenols: antioxidant and toxicological properties. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 1-15.

<https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/29781/1/2.1583-4794-2-PB.pdf>

- Vasco, C., Ávila, J., Ruales, J., & Svanberg, U. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/09637480903099618>
- Wang, S., & Lin, H. (2000). Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry,. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 140-146.

Anexos

Anexo 1. Planta de *Margyricarpus Pinnatus* (Lam.) Kuntze.



Anexo 2. Recolección de los frutos de *Margyricarpus Pinnatus* (Lam.) Kuntze



Anexo 3. Preparación de los frutos de *Margyricarpus Pinnatus* (Lam.) Kuntze

A.



B.



C.



D.



E.



F.



A. Frutos con impurezas. **B.** Frutos limpios. **C.** Frutos deshidratados. **D.** Frutos secos triturados. **E.** Polvo fino de *M. Pinnatus*. **F.** Determinación Humedad.

Anexo 4. Análisis ANOVA y TUCKEY en diferentes solventes utilizados para extracción de polifenoles en *M. pinnatus*.

ANOVA summary	
F	5.374
P value	0.0142
P value summary	*
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R squared	0.6825

Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
H2O vs. Etanol 96%	98.98	-21.12 to 219.1	No	ns	0.1215	A-B
H2O vs. Etanol 70%	-22.49	-142.6 to 97.61	No	ns	0.9691	A-C
H2O vs. Etanol 50%	-37.71	-157.8 to 82.39	No	ns	0.8347	A-D
H2O vs. Etanol 30%	-51.17	-171.3 to 68.93	No	ns	0.6399	A-E
Etanol 96% vs. Etanol 70%	-121.5	-241.6 to -1.370	Yes	*	0.0472	B-C
Etanol 96% vs. Etanol 50%	-136.7	-256.8 to -16.59	Yes	*	0.0247	B-D
Etanol 96% vs. Etanol 30%	-150.2	-270.3 to -30.05	Yes	*	0.014	B-E
Etanol 70% vs. Etanol 50%	-15.22	-135.3 to 104.9	No	ns	0.9926	C-D
Etanol 70% vs. Etanol 30%	-28.68	-148.8 to 91.42	No	ns	0.929	C-E
Etanol 50% vs. Etanol 30%	-13.46	-133.6 to 106.6	No	ns	0.9954	D-E

Anexo 5. Análisis ANOVA y TUCKEY en diferentes solventes utilizados para identificación de actividad antioxidante en *M. pinnatus*.

ANOVA summary	
F	101.8
P value	<0.0001
P value summary	****
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
R squared	0.976

Tukey's múltiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
H2O vs. Etanol 96%	43.09	32.99 to 53.19	Yes	****	<0.0001	A-B
H2O vs. Etanol 30%	3.37	-6.732 to 13.47	No	ns	0.804	A-C
H2O vs. Etanol 50%	-4.65	-14.75 to 5.452	No	ns	0.5762	A-D
H2O vs. Etanol 70%	-13.67	-23.77 to -3.568	Yes	**	0.0084	A-E
Etanol 96% vs. Etanol 30%	-39.72	-49.82 to -29.62	Yes	****	<0.0001	B-C
Etanol 96% vs. Etanol 50%	-47.74	-57.84 to -37.64	Yes	****	<0.0001	B-D
Etanol 96% vs. Etanol 70%	-56.76	-66.86 to -46.66	Yes	****	<0.0001	B-E
Etanol 30% vs. Etanol 50%	-8.02	-18.12 to 2.082	No	ns	0.141	C-D
Etanol 30% vs. Etanol 70%	-17.04	-27.14 to -6.938	Yes	**	0.0018	C-E
Etanol 50% vs. Etanol 70%	-9.02	-19.12 to 1.082	No	ns	0.0862	D-E


Anexo 6. Determinación de acidez titulable del fruto *M.pinnatus*.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS

0000731

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Certificado No: 22-053		R01-7.8 03				
Solicitud N°: 22-053		Pág.: 1 de 1				
Fecha recepción: 27 Abril de 2022		Fecha de ejecución de ensayos: 29 de Abril de 2022				
Información del cliente:						
Empresa:		C.I./RUC: 0105782106				
Representante: Leslie Pacheco/ Dr. Homero Vargas		TIF: 0959549110				
Dirección: Río Yasuni y Río Cutuchi		Email: lpacheco2106@uta.edu.ec				
Ciudad: Ambato						
Descripción de las muestras:						
Producto: Nigua		Peso/ Vol.: 70g				
Marca comercial: n/a		Tipo de envase: empaque plástico				
Lote: n/a		No de muestras: una				
F. Elb.: n/a		F. Exp.: n/a				
Conservación: Ambiente: Refrigeración: X Congelación:		Almac. en Lab: 30 días				
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos:		Rotos: Muestreo por el cliente: 22 de abril de 2022				
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados/Técnica	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Nigua (<i>Margyricarpus pinnatus</i>)	05322111	Ninguno	Acidez, Potenciometría	AOAC 942.15. Ed. 21, 2019	% ácido cítrico	0,0422
Conds. Ambientales: 20,1°C; 55,6%HR						
 Ing. Gabriela Flores Directora						
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si						
Fecha de emisión del certificado: 01 de julio de 2022						

Nota: La muestra fue suministrada por el cliente y los resultados se aplican a la muestra en las condiciones recibidas. El Laboratorio se responsabiliza exclusivamente de los resultados emitidos en base a la muestra entregada por el cliente.

El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".



Dir.: Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi. Av. Los chasquis y Río Payamino
Edificio Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología / Ambato - Ecuador
 (593) 32400987 ext. 5517; 5518 <http://laconal.uta.edu.ec> laconal@uta.edu.ec

Anexo 7. Análisis Microbiológico de la bebida en polvo




UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS



0000760

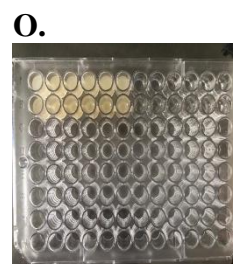
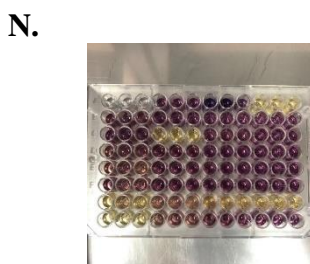
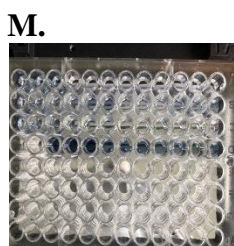
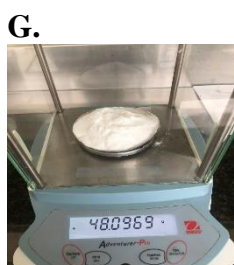
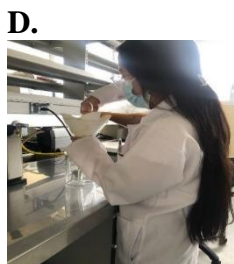
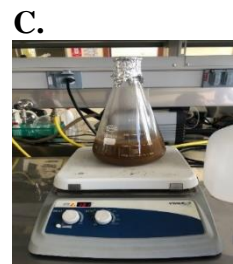
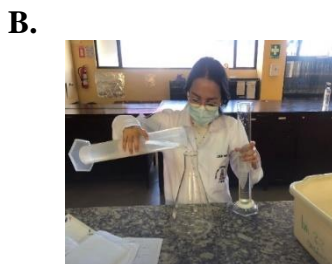
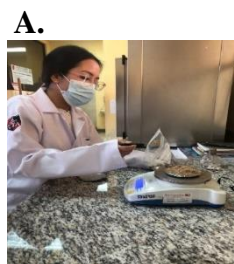
CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Certificado No: 22-095		R01-7.8.03				
Solicitud N°: 22 - 095		Pag.: 1 de 1				
Fecha recepción: 22 de julio de 2022		Fecha de ejecución de ensayos: 25 al 29 de julio de 2022				
Información del cliente:						
Empresa:	C.I/RUC: 0105782106					
Representante: Leslie Pacheco / Dr. Homero Vargas	Tlf: 0959549110					
Dirección: Río Yasuni y Río Cutuchi	Email: lpacheco2106@uta.edu.ec					
Ciudad: Ambato						
Descripción de las muestras:						
Producto: Bebida en polvo enriquecida con M. pinnatus	Peso/ Vol.: 20g					
Marca comercial: n/a	Tipo de envase: empaque plástico					
Lote: n/a	No de muestras: una					
F. Elb.: n/a	F. Exp.: n/a					
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:	Almac. en Lab: 30 días					
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:	Muestreo por el cliente: 22 de julio de 2022					
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados/ Técnica	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Bebida en polvo enriquecida con M. pinnatus	09522187	Ninguno	Mohos, Petrifilm	PE-02-7.2-MB AOAC 997.02 Ed. 21, 2019	UPM/g	<10
			Levaduras, Petrifilm	PE-02-7.2-MB AOAC 997.02 Ed. 21, 2019	UPL/g	<10
			Coliformes Totales, Compact Dry	PE01-7.2-MB AOAC R.1: 110402 Ed. 21, 2019	UFC/g	<10
			E. Coli, Compact Dry	PE01-7.2-MB AOAC R.1: 110402 Ed. 21, 2019	UFC/g	<10
Conds. Ambientales: 24,2 °C; 47,2%HR						
 Ing. Gladys Ristueño Directora de Calidad						
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si						
Fecha de emisión del certificado: 29 de julio de 2022						
<small>Nota: La muestra fue suministrada por el cliente y los resultados se aplican a la muestra en las condiciones recibidas. El Laboratorio se responsabiliza exclusivamente de los resultados emitidos en base a la muestra entregada por el cliente. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente. *La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente.*</small>						



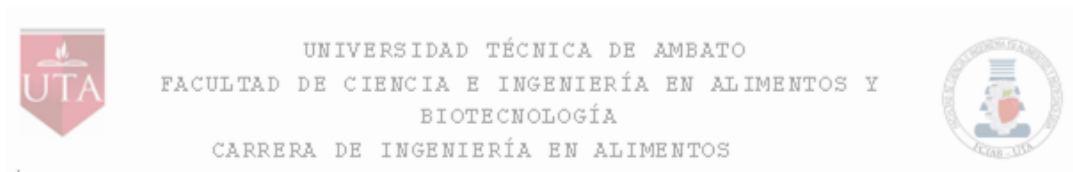
Dir.: Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi. Av. Los chasquis y Río Payamino
 Edificio Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología / Ambato - Ecuador
 (593) 32400987 ext. 5517; 5518 <http://laconal.uta.edu.ec> laconal@uta.edu.ec

Anexo 8. Proceso de extracción y microencapsulación de compuestos bioactivos de *M.Pinnatus*



A. Pesado del fruto de *M. pinnatus* seco y pulverizado. **B.** Mezcla del solvente y el fruto de *M. pinnatus* seco y pulverizado para el extracto. **C.** Homogenización del extracto en la plancha de calentamiento por agitación magnética. **D.** Filtración de los sólidos. **E.** Obtención del extracto concentrado de *M. pinnatus* en el rotaevaporador. **F.** Pesado del extracto concentrado en botella ámbar. **G.** Pesado de la maltodextrina **H.** Mezcla del polímero y el extracto vegetal. **I.** Microencapsulación del extracto concentrado de *M.pinnatus*. **J.** Microencapsulado de *M. pinnatus*. **K.** Espectrofotometría infrarrojo del extracto y el extracto microencapsulado. **L.** Análisis por espectrofotometría UV Visible. **M.** Análisis de Polifenoles por Folin-Ciocalteu mediante espectrofotometría UV visible. **N.** Análisis de la actividad antioxidante por método in vitro (DPPH) mediante espectrofotometría UV visible. **O.** Análisis de la eficiencia del microencapsulado mediante espectrofotometría UV visible.

Anexo 9. Hoja de cata de la bebida reconstituida.



HOJA DE RESPUESTAS PARA PRUEBA AFECTIVA

Método: ESCALA HEDÓNICA

TEMA: BEBIDA INSTANTÁNEA ENRIQUECIDA CON POLIFENOLES DE NIGUA CON SABOR A MANZANA VERDE.

NOMBRE: _____ **EDAD:** _____

FECHA: _____

Instrucciones: Frente a usted hay una muestra de bebida, por favor pruébela e indique su nivel de agrado seleccionando con una **X** el puntaje en la escala que mejor describa lo que usted siente por la muestra de acuerdo con cada uno de sus atributos.

PUNTAJE	Grado de Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta poco
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta poco
5	Me gusta mucho

CARACTERÍSTICAS	CALIFICACIÓN PARA CADA ATRIBUTO			
	OLOR	COLOR	SABOR	APARIENCIA
Me disgusta mucho				
Me disgusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me gusta poco				
Me gusta mucho				

Comentarios:

Anexo 10. Hoja de cata de la bebida en polvo.



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



HOJA DE RESPUESTAS PARA PRUEBA AFECTIVA

Método: ESCALA HEDÓNICA

TEMA: BEBIDA INSTANTÁNEA ENRIQUECIDA CON POLIFENOLES DE NIGUA CON SABOR A MANZANA VERDE.

NOMBRE: _____ **EDAD:** _____

FECHA: _____

Instrucciones: Frente a usted hay una muestra del producto en polvo, por favor indique su nivel de agrado seleccionando con una **X** el puntaje en la escala que mejor describa lo que usted siente por la muestra de acuerdo con cada uno de sus atributos.

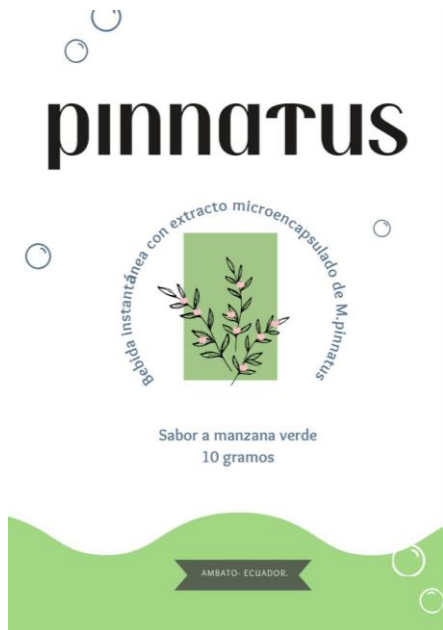
PUNTAJE	Grado de Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta poco
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta poco
5	Me gusta mucho

CARACTERÍSTICAS	CALIFICACIÓN PARA CADA ATRIBUTO		
	OLOR	COLOR	APARIENCIA
Me disgusta mucho			
Me disgusta poco			
No me gusta ni me disgusta			
Me gusta poco			
Me gusta mucho			

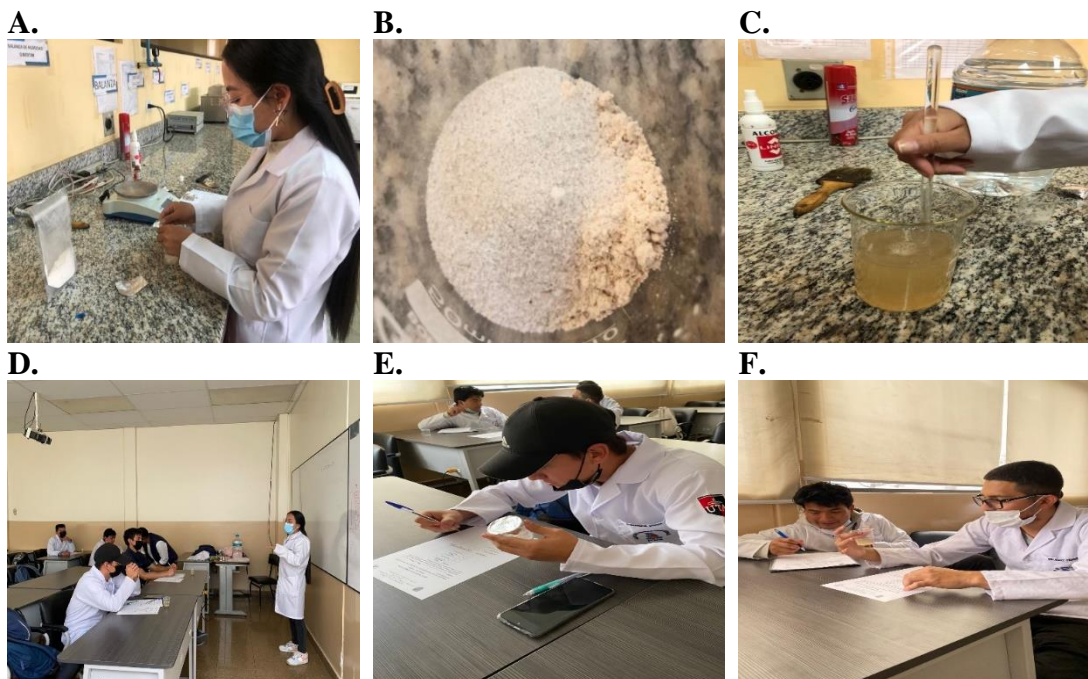
Comentarios:

GRACIAS!!

Anexo 11. Etiqueta de la bebida.



Anexo 12. Panel de cata de la bebida instantánea en polvo sabor a manzana verde enriquecida con el microencapsulado de *M. pinnatus*.



A. Pesado de los ingredientes para la bebida. **B.** Polvo preparado de la bebida. **C.** Reconstitución de la bebida en agua. **D.** Instrucciones para el análisis sensorial. **E.** Catador del polvo de la bebida. **F.** Catador de la bebida reconstituida.