



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Tema: Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de rábano (*Raphanus sativus*).

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

Autora: Julisa Yelena Chulde Osorio

Tutor: PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato-Ecuador

Septiembre – 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Orestes Darío López Hernández

CERTIFICA:

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

PhD. Orestes Darío López Hernández

C.I 1754784864

TUTOR

Ambato, 22 de junio del 2023.

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Julisa Yelena Chulde Osorio, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



.....

Julisa Yelena Chulde Osorio

C.I. 0502894579

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga 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.



.....
Julisa Yelena Chulde Osorio

C.I. 0502894579

AUTORA

APROBACIÓN 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 de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del tribunal

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

CI: 1803571585

Dr. Mario Daniel García Solís

C.I.: 1103605471

Ambato, 24 de agosto del 2023.

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación lo dedico a mi familia, que son mi motor de vida, mi motivación diaria para cumplir mis metas.

A mis padres, por su sacrificio constante que día a día me han apoyado en todo lo que conlleva estudiar en la universidad y por haberme formado como la persona que soy, con raíces bien cimentadas y con valores que me hacen ser una buena persona.

A mi abuelita, que con su gran corazón me ha sabido guiar, escuchar y darme un amor incondicional cuando más lo necesité.

A mis hermanos, que con su carisma alegran mis días. Especialmente a mi Britnysita, que ha sido una luz en mi familia. Gracias a su existencia me he motivado a salir adelante, recobré el sentido de mi vida y fue mi inspiración para ser una hermana ejemplar para sus ojos.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por este logro, por la grandiosa familia con la que me ha bendecido y los amigos que encontré en el transcurso de esta etapa. Por todas aquellas personas que han iluminado mis días, que han llegado sin previo aviso a llenar de colores mis días.

A mi papito y a mi mamita, que por más dura que haya sido la vida para ellos, nos han criado con amor y valores. Decirles gracias sería muy poco, ya que han sacrificado muchas cosas por verme alcanzar este logro. Y desde hoy en adelante quiero que se sientan orgullosos de mi, trataré de hacer lo mejor por ellos y para ellos. Porque quiero que sea mi turno en darles lo que siempre han soñado.

Quiero agradecer a mi abuelita, a mi Mamita Virginia que me ha demostrado que una mujer fuerte y valiente es aquella que arriesga todo y lucha por sus sueños, por sus hijos y por un propósito en especial. Aquella que comparte un poco de lo que tiene, sabiendo que no le alcanzará para la comida del siguiente día. Aquella que vela por la salud y bienestar de la familia.

Al proyecto de Canje de deuda Ecuador-España por brindar facilidades para el uso de equipos y lugar dentro de las instalaciones.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	vii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	1
1.1 Antecedentes Investigativos	1
1.1.1 Descripción de la planta	1
1.1.2 Taxonomía	2
1.1.3 Compuestos fitoquímicos en <i>Raphanus sativus</i>	3
1.1.4 Microencapsulación	3
1.1.5 Antocianinas	5
1.2 Hipótesis	6
1.2.1 Hipótesis Nula	6
1.2.2 Hipótesis Alternativa	6

1.3 Señalamiento de las Variables de la Hipótesis	7
1.3.1 Variables dependientes.....	7
1.3.2 Variables independientes.....	7
1.4 Objetivos	7
1.4.1 Objetivo General	7
1.4.2 Objetivos específicos.....	7
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA	8
2.1 Materiales.....	8
2.1.1 Materiales de laboratorio.....	8
2.1.2 Equipos.....	8
2.1.3 Reactivos y materia prima.....	9
2.2 Métodos.....	9
2.2.1 Trabajo de campo.....	9
2.2.2 Preparación de material vegetal	9
2.2.3 Obtención extractos líquidos.....	10
2.2.4 Determinación de sólidos totales.....	10
2.2.5 Análisis por espectroscopia de UV-Vis	11
2.2.6 Microencapsulación del concentrado	12
2.2.7 Análisis de la eficiencia de microencapsulación.....	13
2.2.8 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR	13

2.2.9 Evaluación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	13
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1 Diseño experimental	15
3.2 Microencapsulación de antocianinas	18
3.3 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR	20
3.4 Capacidad antioxidante mediante el método de DPPH (<i>In vitro</i>).....	22
CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	25
4.1 Conclusiones	25
4.2 Recomendaciones	26
BIBLIOGRAFÍA	277
ANEXOS	322

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	<i>Taxonomía del rábano</i>	2
Tabla 2.	<i>Ventajas y desventajas del proceso de secado por aspersión.</i>	5
Tabla 3.	<i>Tabla ANOVA del diseño experimental.</i>	15
Tabla 4.	<i>Resultados de la eficiencia de la microencapsulación.</i>	19
Tabla 5.	<i>Determinación del porcentaje de inhibición mediante el método de DPPH</i>	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Planta de rábano (Raphanus savitus)</i>	2
Figura 2. <i>Diagrama de Pareto Estandarizada para la concentración de antocianinas</i> . ..	17
Figura 3. <i>Gráfico de superficie de respuesta en la obtención de antocianinas</i>	18
Figura 4. <i>Análisis de espectrofotometría infrarroja FT-IR en muestras de antocianinas de Raphanus s. sin microencapsular, microencapsulado y el polímero empleado (maltodextrina)</i>	21
Figura 5. <i>Espectro FT-IR del microencapsulado de antocianinas con una dilución 1/20</i> .22	

RESUMEN EJECUTIVO

El estudio de obtención y conservación de nuevos pigmentos naturales ha sido de gran interés para las industrias alimenticias y más aún si el colorante natural puede conservar su principio activo mediante una microesfera que lo protege de las influencias externas.

El presente trabajo de titulación consiste en la extracción de antocianinas utilizando etanol al 96 por ciento y ácido cítrico 2,5 por ciento como disolvente, bajo las condiciones óptimas de un diseño experimental 2 al cuadrado, cuyas variables consideradas fueron: tiempo y relación material vegetal con respecto al volumen del disolvente (MV:VD). Las condiciones óptimas fueron un tiempo de extracción de 45 minutos y relación MV:VD de 1:30, obteniendo así una concentración de 183 mg en 100g, superior a los demás tratamientos. Los extractos caracterizados por espectrofotometría UV-Vis presentaron valores máximos de absorbancia a 509 nm que corresponden a estructuras antiánicas como derivado de pelargonidina y cianidina. De la misma manera por espectroscopia FT-IR se aprecian claramente las señales de absorbancia a diferentes valores de frecuencias de vibración que pertenecen a los grupos funcionales de antocianinas, de manera que dicho compuesto se microencapsuló con éxito.

Las antocianinas microencapsuladas presentaron una eficiencia de encapsulación del 88.17 por ciento, mientras que la actividad antioxidante fue evaluada a 515 nm, con lo cual se determinó una eficiencia para inhibir el radical DPPH con 90.19 por ciento. Concluyendo así que esta legumbre tiene alto poder antioxidante y puede ser empleado como un alimento funcional.

Palabras clave: *Raphanus sativus*, antocianinas, antioxidantes, microencapsulación y espectroscopia.

ABSTRACT

The study of obtaining and preserving new natural pigments has been of great interest to the food industries and even more so if the natural coloring can preserve its active principle through a microsphere that protects it from external influences.

The present titration work consists of the extraction of anthocyanins using 96 percent ethanol and 2.5 percent citric acid as a solvent, under the optimal conditions of a 2-squared experimental design, whose variables considered were: time and relation to plant material. with respect to the volume of solvent (MV:VD). The optimal conditions were an extraction time of 45 minutes and a MV:VD ratio of 1:30, thus obtaining a concentration of 183 mg in 100g, higher than the other treatments. The extracts characterized by UV-Vis spectrophotometry presented maximum absorbance values at 509 nm that correspond to antianic structures such as pelargonidin and cyanidin derivatives. In the same way, by FT-IR spectroscopy, the absorbance signals at different values of vibration frequencies that belong to the anthocyanin functional groups are clearly appreciated, so that said compound was successfully microencapsulated.

The microencapsulated anthocyanins presented an encapsulation efficiency of 88.17 percent, while the antioxidant activity was evaluated at 515 nm, which determined an efficiency to inhibit the DPPH radical with 90.19 percent. Thus concluding that this legume has high antioxidant power and can be used as a functional food.

Keywords: *Raphanus sativus*, anthocyanins, antioxidants, microencapsulation and spectroscopy.

CAPÍTULO I:

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

1.1.1 Descripción de la planta

Raphanus sativus

El rábano (*Raphanus sativus*) es una hortaliza cultivada a nivel mundial, originaria de Europa y Asia. Su crecimiento es apto en climas templado en altitudes entre 190 a 1240 msnm y puede llegar a medir desde 30 y 90 cm de altura. Tiene un tallo corto con hojas oblongas en forma de roseta que miden entre 5 a 30 cm de largo (Figura 1), su fruto se caracteriza por ser cilíndrica de color muy variado, puede ser roja, negra, blanca o amarilla dependiendo de su origen, con pulpa crujiente de color claro y un sabor agudo casi picante. Las raíces pueden ser diversas en cuanto a su grosor, tamaño, forma y colores.

Por otro lado, el rábano es considerado como una raíz debido a su estructura especializada (hipocotilos) desarrollándose en un hábitat subterráneo total o parcial y puede almacenar almidón y otros compuestos. Ciertas características del rábano son causadas a su contenido fitoquímico, por ejemplo: los pigmentos de antocianina proporcionan el color rojo de las raíces, mientras que un alto potencial para formar isotiocianatos contribuye al sabor picante y distintivo, que es muy popular en países como Japón, Filipinas y Hawai (Gamba et al., 2021).

En países occidentales como Japón, los rábanos son considerados uno de los alimentos más esenciales en su dieta, ya que son consumidos en muchos platillos tradicionales. Principalmente su ingesta se relaciona a los beneficios de la salud, siendo una fuente de antioxidantes como catequina pirogalol, ácido vanílico y otros compuestos fenólicos. Entre algunas soluciones a las afecciones al ser humano se incluye: reducción del riesgo a desarrollar diabetes mediante la producción natural de adiponectina que mejora el metabolismo de la glucosa a través del aumento de la sensibilidad a la insulina; disminuye la presión arterial alta y reduce los riesgos de enfermedades cardíacas (Begum, 2022).

Según Gomez, (2021) afirma que la región 3 del Ecuador es la principal zona productora de esta hortaliza, también menciona que en el censo del 2010 se cultivó alrededor de 14 455 mil hectáreas.

Generalmente en Ecuador y alrededor del mundo esta hortaliza es consumida en ensaladas por su sabor ligeramente picante y por sus propiedades para tratar enfermedades hepáticas y respiratorias. Según Gutiérrez & Perez, (2004) indican que el extracto de este alimento posee actividad antibiótica que puede persistir en el tiempo, por lo que valida su eficiencia frente a enfermedades microbianas principalmente causadas por *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella thyphosa*. Las antocianinas (pelargonidin-3-sophoroside-5-glucoside) de la corteza del rábano poseen actividad antioxidante, similar a BHT en iguales concentraciones. El índice de inhibición puede alcanzar un 93% o más, con la adición del pigmento al 0,01%.

Figura 1.

Planta de rábano (Raphanus savitus).



1.1.2 Taxonomía

Tabla 1.

Taxonomía del rábano

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobionata
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida

Orden	Brassicales
Familia	Brassicaceae
Género	<i>Raphanus</i>
Especie	<i>R. sativus</i>
Nombre científico	<i>Raphanus sativus</i>

Fuente: (Cauja & Ocaña, 2020)

1.1.3 Compuestos fitoquímicos en *Raphanus sativus*

El rábano contiene compuestos bioactivos que se han utilizado en el tratamiento de diversas enfermedades; por tanto, hay gran interés por parte de industrias farmacéuticas y científicas que investigan la composición nutricional y fitoquímica de toda la planta, incluyendo las hojas, fruto y raíces.

Para la extracción de compuestos del rábano Gamba et al. (2021) indican que el metanol o mezclas de etanol y extractos acuosos del fruto, aplicados en los tejidos del rábano, son óptimos para el análisis de sus compuestos. No obstante, el análisis por cromatografía líquida de alta resolución permite diferenciar los compuestos que se encuentran en mayor concentración en diferentes partes de *Raphanus sativus*, por ejemplo: Las hojas poseen mayor concentración de macronutrientes como el calcio, potasio, sodio, fibra, ácidos grasos y polifenoles no flavonoides. A diferencia de los brotes que se componen de flavonoides (antocianinas, β -caroteno y vitamina C). Mientras que, las raíces y las semillas son ricas en polifenoles no flavonoides, terpenos y derivados, y glucosinolatos.

1.1.4 Microencapsulación

La microencapsulación se define como la tecnología de encapsulamiento de sustancias sólidas, líquidas o gaseosas, mediante el recubrimiento con un material encapsulante que actúan como una película envolvente, aislando la sustancia bioactiva (núcleo) e impidiendo los efectos de su inadecuada exposición al ambiente. Este proceso forma pequeñas esferas llamadas microcápsulas con diámetros desde 0,2 μm hasta 5000 μm . Los encapsulantes son a base de material polimérico o no polimérico como la celulosa, etilenglicol y gelatina, que

pueden ser solubles mediante estímulos específicos con el fin de liberar el núcleo en el lugar ideal o en el momento ideal (Da Silva et al., 2014).

Existen varias técnicas utilizadas para la microencapsulación por ejemplo el recubrimiento en lecho fluidizado, el enfriamiento por aspersión, secado por aspersión, extrusión, coacervación, entre otros. La selección de la técnica depende de las propiedades activas del núcleo, así como también del material encapsulante y la morfología de las cápsulas. La eficiencia de la técnica va relacionada con la morfología, tamaño, hidrofobicidad, higroscopicidad, solubilidad, tensión superficial, comportamiento térmico y propiedades mecánicas (Choudhury et al., 2021).

1.1.4.1 Microencapsulación mediante secado por aspersión

La técnica de secado por aspersión es una operación unitaria en donde una sustancia líquida ingresa en un atomizador y atraviesa por una corriente de gas caliente que transforma instantáneamente su estado líquido en polvo. El gas utilizado en este método es el aire caliente, pero en casos especiales se puede emplear un gas inerte como el nitrógeno. El resultado del proceso dependerá del material y las condiciones iniciales de la operación, por lo general se puede producir un polvo fino (10-50 μm) o partículas alargadas (2-3 μm) (Valdés, 2018).

Éste método ha sido ampliamente utilizado en la industria de los alimentos y farmacéuticas, ya que es un proceso de menor costo y proporciona una rápida evaporización del disolvente del núcleo, puede mantener las partículas a temperaturas bajas para su conservación (Choudhury et al., 2021).

Según Riera (2020) esta técnica puede atrapar el material activo dentro de una matriz protectora (encapsulante), que tiene características inertes, es decir que su composición no altera el principio activo ni las propiedades del material de interés. A diferencia de otras técnicas de microencapsulación convencionales, ésta tiene la ventaja de producir microcápsulas en una operación de proceso continuo relativamente simple.

Por otro lado, puede ser considerado como una operación que genera gran pérdida de energía, ya que resulta ser un desafío utilizar todo el calor que pasa a través de la cámara de secado. Por ende, existen varias ventajas y desventajas que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Ventajas y desventajas del proceso de secado por aspersión.

VENTAJAS
<ul style="list-style-type: none">• Bajo costo de operación.• Proceso controlado continuo.• Alto rendimiento y calidad de encapsulamiento.• Velocidad en la operación.• Cápsula altamente soluble.• Tamaño pequeño de partícula.• Alta estabilidad de cápsulas.
DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none">• Producción no uniforme de microcápsulas.• Limitación de elección de material de pared.• Producción de polvos demasiado finos para las necesidades a satisfacer con el producto final.

Fuente: (Valdés, 2018).

1.1.5 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos naturales hidrosolubles que se encuentran ampliamente en el reino vegetal y tienen efectos beneficiosos tanto para la planta como para los humanos y los animales. Se constituyen por una molécula de antocianidina (aglicona) unida a una molécula de azúcar a través de un medio enlace β -glucosídico. Las agliconas libres no son muy comunes en los alimentos, a excepción de varios compuestos traza en los procesos de degradación Aguilera et al. (2011) manifiestan que el color de las antocianinas depende de factores intrínsecos, por ejemplo, los sustituyentes químicos que están compuestos, además del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula.

Las antocianinas comúnmente son sintetizadas por las plantas y son las responsables de aportar colores rojo, naranja, azul y púrpura de muchas flores, frutas y verduras, bajo diferentes condiciones de pH. La presencia de este pigmento en diferentes partes de la planta es de gran importancia, debido a que juegan un papel importante en la ecofisiología y en la propagación de plantas; con el fin de atraer polinizadores y generar mecanismos de defensa de las plantas contra factores de estrés bióticos y ambientales (Barragán et al., 2020).

Actualmente estos pigmentos naturales son de gran interés para la industria de los alimentos, en primera instancia por las características sensoriales de los alimentos, ya que el ser humano perceptivo juzga la calidad de un producto por su presentación y el color, además que permiten mejorar o preservar la apariencia original de los alimentos. Se pueden ingerir a través de su uso como aditivo alimentario y suplementos dietéticos, obtenidos como extractos de frutas, polvos y compuestos purificados ricos en antocianinas (Chávez, 2014).

Por otro lado, existe gran demanda de las antocianinas gracias a los posibles efectos terapéuticos y beneficiosos, tales como la reducción de la enfermedad coronaria, son anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos. De tal manera, las propiedades bioactivas de la pelargonidina de la corteza de rábano, da paso a una nueva perspectiva en la obtención de productos pigmentados con valor agregado, capaces de sustituir a colorantes sintéticos con posibles efectos dañinos, tóxicos y carcinogénicos (Serna-Saldivar et al., 2016).

1.2 Hipótesis

1.2.1 Hipótesis Nula

La microencapsulación de antocianinas de *Raphanus sativus* no influye en las propiedades antioxidantes del extracto.

1.2.2 Hipótesis Alternativa

La microencapsulación de antocianinas de *Raphanus sativus* si influye en las propiedades antioxidantes del extracto.

1.3 Señalamiento de las Variables de la Hipótesis

1.3.1 Variables dependientes

Propiedad antioxidante del extracto puro y Microencapsulado de *Raphanus sativus*.

1.3.2 Variables independientes

Proporción de material vegetal y tiempo de transporte de materia en la operación de extracción sólido-líquido.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Extraer y microencapsular las antocianinas presentes en la corteza de rábano (*Raphanus sativus*).

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar los parámetros óptimos de extracción de antocianinas de *Raphanus sativus* mediante la aplicación de un diseño experimental.
- Microencapsular los compuestos extraídos de *Raphanus sativus*.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del producto microencapsulado.

CAPÍTULO II:

METODOLOGÍA

2.1 Materiales

2.1.1 Materiales de laboratorio

- Corteza de rábano (*Raphanus sativus*)
- Balones de aforo (vidrio PYREX-GLASSCO)
- Matrices Erlenmeyer (vidrio PYREX-GLASSCO)
- Magnetos Elicrom
- Pipetas
- Pera de succión
- Probetas graduadas (vidrio PYREX-GLASSCO)
- Termómetro (vidrio PYREX-GLASSCO)
- Frascos color ámbar
- Micropipetas
- Papel aluminio
- Papel filtro

2.1.2 Equipos

- Balanza analítica OHAUS
- Molino manual
- Balanza de humedad Kern MLS 50-3
- Estufa Grander MTN, modelo CD-160
- Plancha de calentamiento (Corning PC-620D)
- Espectrofotómetro UV-VIS (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™
accuSkan™ GO)
- Espectrofotómetro FT IR-ATR PerkinElmer
- Secador por aspersion BÜCHI mini spray-dryer B-290,
- Rotoevaporador (IKA HB10)

- Refrigerador Indura.
- Software de análisis de datos estadístico y gráfico, Statgraphics XVII 64x

2.1.3 Reactivos y materia prima

- Corteza de rábano (*Raphanus sativus*)
- Etanol 96 %
- Ácido cítrico
- Maltodextrina
- Agua destilada
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)
- Trolox

2.2 Métodos

2.2.1 Trabajo de campo

La materia prima fue adquirida de varios racimos de rábano en el Mercado Mayorista ubicado en la ciudad de Ambato y se trasladó a la Universidad Técnica de Ambato en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Se seleccionó de acuerdo con su presentación en buen estado; es decir, que no se encuentran en descomposición, ni presenten manchas marrones en la cáscara.

2.2.2 Preparación de material vegetal

Los rábanos se separaron de los tallos y se lavaron con abundante agua potable, con el fin de evitar material de interferencia en el estudio. Una vez secos, se procedió a retirar la corteza de la pulpa del rábano, ya que las antocianinas que se desean extraer, únicamente se encuentran en la epidermis del fruto; se secaron las cáscaras en un horno (Gander MTN) durante 24 horas a una temperatura de 60 °C (Ramos, 2019).

El material vegetal seco obtenido en el proceso de secado, fue sometido a un proceso de molinado para conseguir un polvo fino, útil para el proceso de extracción. Este proceso se

llevó a cabo en el laboratorio de UODIDE- Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo.

2.2.3 Obtención extractos líquidos

Para la extracción de antocianinas, los procesos se ejecutaron en el Laboratorio Académico 3-2 de Química Analítica, donde se consideraron diferentes variables como la relación material vegetal con respecto al volumen de disolvente empleado y el tiempo de extracción, donde se mantuvo constante la temperatura. El disolvente a utilizar es una solución de ácido cítrico al 2,5 % en etanol al 96 % (Taco, 2017).

Se procedió a pesar el material vegetal mediante el uso de la balanza analítica (Ohaus Pioneer) y se mezcló en matraces Erlenmeyer (Pyrex) con etanol como disolvente en proporciones 1:20 y 1:30 (material vegetal-volumen de disolvente). Se calentó en una plancha de calentamiento (Corning PC-620D) alcanzando una temperatura de 70 °C en intervalos de tiempo de 30-45 minutos para cada ensayo. Una vez enfriada la muestra se centrifugó a 300 min⁻¹ por 10 min, con el objetivo de separar la fase de material vegetal y el extracto. Posteriormente el precipitado fue desechado, mientras que el sobrenadante se conservó en botellas cerradas de vidrio color ámbar, almacenadas en refrigeración a 4 °C, de modo que se evite la descomposición de las antocianinas (Heras, Alvis & Arrazola, 2013).

2.2.4 Determinación de sólidos totales

Para la determinación de sólidos totales (SST) se determinó primeramente la humedad residual de cada extracto mediante una balanza de humedad (KERN MLS 50-3) y se empleó la siguiente ecuación:

$$*SST = 100 - \% \text{ humedad}$$

Ecuación 1. Determinación de sólidos totales.

Donde:

*SST: sólidos totales

% humedad: cantidad de humedad del extracto correspondiente al disolvente

El rendimiento se determinó calculando la masa de sólidos extraídos con el fin de evaluar la efectividad del proceso, empleando las siguientes ecuaciones:

$$Ms = \frac{*SST}{100\%} \times V_{liq}(\text{extraído})$$

Ecuación 2. Masa de sólidos extraídos.

Donde:

*SST: sólidos totales

Ms: Masa de sólidos extraídos

$$\text{Rendimiento} = \frac{MS}{\text{Masa MV}} \times 100$$

Ecuación 3. Rendimiento.

Masa MV: peso del material vegetal (g)

(Bastidas, 2019).

2.2.5 Análisis por espectroscopia de UV-Vis

A partir de los extractos líquidos se aplicó un factor de dilución 1/20 con agua destilada y en el caso del blanco será la solución de etanol acidificado. Se utilizó el espectrofotómetro UV-VIS (Microplate Spectrophotometer Fisherbrand™ accuSkan™ GO) para medir una banda de absorción entre 200-600 nm e identificar el pico de la curva donde se mostró la longitud de onda con mayor cantidad de antocianinas captadas (E. Ramos, 2019). Ozaeta (2015) el total de antocianinas puede ser determinado en extractos crudos, a través de la medición de la absorbancia a una longitud de onda, ya que las antocianinas tienen un máximo de absorción de 510-550 nm.

A continuación, se presenta la ecuación con la que se puede calcular la concentración de antocianinas a partir de los resultados obtenidos de la absorbancia.

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

Ecuación 4. Cuantificación de antocianinas

Donde:

C: Concentración de antocianinas mg/100 g

A: Absorbancia

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

Vol: Volumen total del extracto de antocianinas

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

(Aranda, 2018).

2.2.6 Microencapsulación del concentrado

La microencapsulación se realizó mediante el método de secado por aspersion, cuyo extracto fue concentrado en un rotoevaporador (IKA HB10) a 70 °C para reducir el disolvente presente en la muestra. Para preservar el extracto ya concentrado se mantuvo en refrigeración a 4 °C en botellas de vidrio color ámbar.

Por otro lado, se preparó una solución de recubrimiento de las partículas de antocianinas, para lo cual se mezcló maltodextrina y agua destilada con agitación constante. El proceso de microencapsulación se ejecutó en un Mini Spray Dryer BUCHI-B290. Una vez que el extracto ingresó por la manguera hacia el atomizador gracias a la función de la bomba peristáltica, fue conducido hacia la cámara de secado donde se formaron las partículas (Sotomayor & Vargas, 2017).

2.2.7 Análisis de la eficiencia de microencapsulación

Se realizó una dilución 1:10 tanto con etanol como con agua, posteriormente se determinó la concentración en ambos disolventes y luego el porcentaje de la eficiencia de microencapsulación, a través de la ecuación 5 (Riera, 2020).

$$\%EM = \frac{\text{Conc. agua} - \text{Conc. EtOH}}{\text{Conc. agua}} * 100 \%$$

Ecuación 5. Eficiencia de microencapsulación.

Donde:

Conc. Agua: concentración del Microencapsulado en agua (total).

Conc. EtOH: concentración del Microencapsulado en etanol (libre).

% EM: porcentaje de eficiencia de microencapsulación

2.2.8 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR

De acuerdo a Negrete & Secaira, (2016) indican que este método es mayormente utilizado para análisis en muestras de polvo, para lo cual se tomaron muestras del concentrado, el material microencapsulado y los polímeros, cada una se evaluó en un espectrofotómetro infrarrojo con dispositivo de ATR. El resultado mostró un espectro con las bandas características de los grupos OH.

2.2.9 Evaluación de la actividad antioxidante in vitro

Se evaluó la capacidad antioxidante del material microencapsulado y del extracto, utilizando como estándar una solución madre de Trolox de 50-500 $\mu\text{mol l}^{-1}$, mediante la técnica que utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido por las siglas DPPH, dicho radical libre es susceptible a reaccionar ante compuestos antioxidantes dentro de un proceso caracterizado por ceder un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. Posteriormente se determinó el porcentaje de inhibición a través de la ecuación (Guija et al., 2015).

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

Ecuación 6. Porcentaje de inhibición de DPPH.

Donde:

(A_m) es la absorbancia de la muestra,

(A_b) la absorbancia del blanco reactivo

(A_c) la absorbancia de control.

CAPÍTULO III:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Diseño experimental

Se desarrolló un diseño 2^2 para el proceso de extracción sólido- líquido con etanol acidificado. Las variables consideradas fueron: tiempo (30 y 45 minutos) y relación material vegetal/volumen del disolvente (1/20 y 1/30). El Análisis de la Varianza (ANOVA) analizado por el programa estadístico Statgraphics, permitió analizar el diseño experimental, dando como resultado una tabla ANOVA (Tabla 3), donde se expresan la influencia de las variables estudiadas sobre la extracción de antocianinas a partir de la corteza de rábano. Según Dagnino (2014) es una técnica estadística que estudia el efecto de la interacción de uno o varios factores sobre la media de una variable.

Tabla 3.

Tabla ANOVA del diseño experimental.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Relación MV/VD	2389.11	1	2389.11	601793.94	0.0000
B:Tiempo extracción	12.8837	1	12.8837	3245.29	0.0000
AB	1367.64	1	1367.64	344495.69	0.0000
Bloques	0.0164862	2	0.00824308	2.08	0.2064
Error total	0.0238198	6	0.00396997		
Total (corr.)	3769.67	11			

La Tabla 3 muestra la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0,05; indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%. Además, se obtuvo un valor de R-cuadrada ajustada de 99,9988 %, el cual indica que la variabilidad de los factores de tiempo de extracción y la relación Material Vegetal/Volumen de Disolvente, se encuentran en torno a la media y existe una interacción

considerable. De acuerdo a Cobo et al. (2014) el R^2 al ser un porcentaje de la variación en la variable de respuesta, sus valores serán entre 0-100%; mientras los valores sean más cercanos a 1, se dice que es un ajuste lineal perfecto. Por ende, permite predecir futuros resultados o probar una hipótesis.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$CA = 360,687 - 7,85367 * R \text{ MV/VD} - 7,25527 * t + 0,284684 * R \text{ MV/VD} * t$$

Donde

CA= concentración de antocianinas

R MV/VD= Relación material vegetal/volumen del disolvente

t=tiempo de extracción

Los factores que influyen en el proceso de extracción son R MV/VD, tiempo de extracción y temperatura. Sin embargo, la temperatura es la única variable que se mantiene a (70 °C) para cada análisis en estudio, considerando que es un factor significativo con respecto a la estabilidad de los pigmentos hidrosolubles. De acuerdo a (Sepúlveda & Zapata, 2019) los compuestos fenólicos se pueden deteriorar a causa del incremento de la temperatura (mayor a 85), resultando pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 y la apertura del anillo, lo que provocaría la producción de chalconas y no del producto de interés.

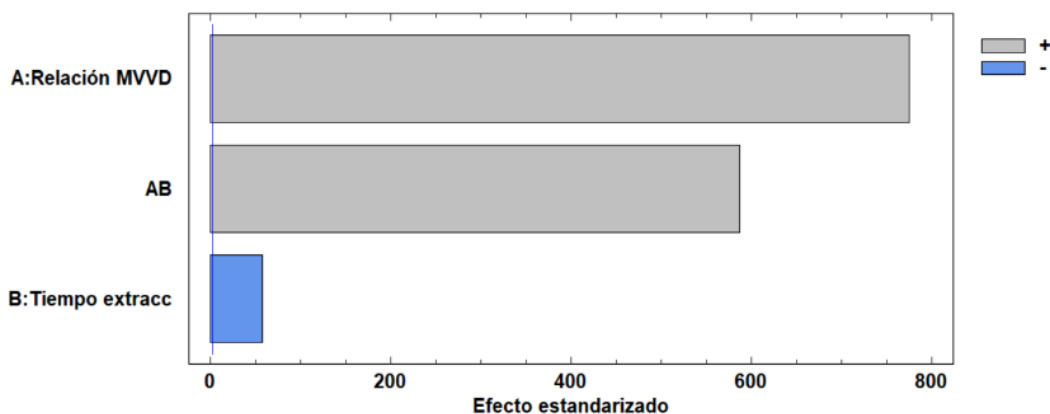
Con respecto al tiempo en la Figura 2, se aprecia que tiene una tendencia a descender a medida que se aumenta el tiempo, ya que es un factor que participa directamente en la optimización del proceso de extracción de antocianinas. Así también, los tratamientos de extracción a altas temperaturas y tiempos prolongados, pueden causar la disminución en la capacidad antioxidante, oxidación de compuestos fenólicos por la luz, exposición al oxígeno y a la degradación (Heras et al., 2013).

Según Alfaro et al. (2019) la interpretación de los datos mediante un diagrama de Pareto, permite distinguir el factor con más relevancia dentro del diseño experimental, de tal manera

se observa de forma clara y rápida el resultado de comparación y priorización, tal es el caso del efecto A.

Figura 2.

Diagrama de Pareto Estandarizada para la concentración de antocianinas.



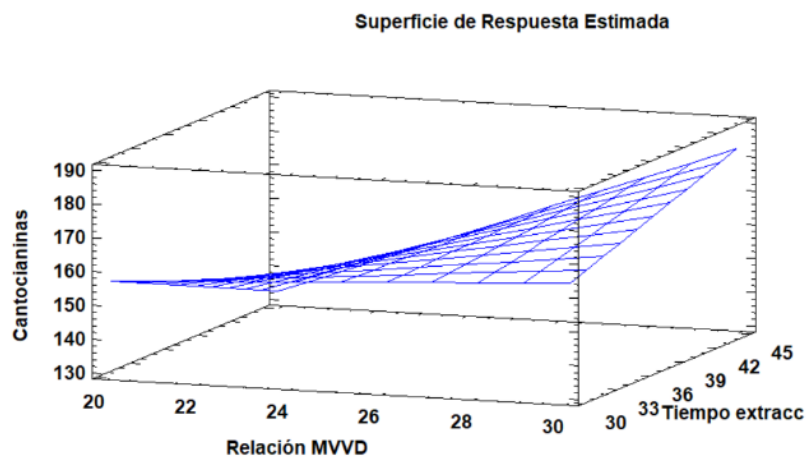
Se observa en la Figura 2 los efectos estimados y las interacciones, donde las barras que representan los tratamientos A, B y AB cruzan la línea de referencia que tiene un valor de 1,333. Este valor representa el factor de inflación de varianza (V.I.F), siendo la relación MV/VD más significativa que los otros tratamientos. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores V.I.F. serían igual a 1, dado el caso de que supere un valor de 10 o más normalmente se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos (Montero, 2016).

Mediante la Metodología de Superficie de Respuesta, se pudo determinar un modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos, ya que tiene la finalidad de establecer las condiciones óptimas para un proceso determinado (Del Ángel et al., 2015).

En la Figura 3 se puede apreciar el gráfico de superficie de respuesta estimada para la obtención de antocianinas, donde la máxima concentración de antocianinas (182,978 mg/L) se consigue con una relación MV/VD de 1:30, sometido a 45 min, que representa el tiempo más alto dentro de las variables.

Figura 3.

Gráfico de superficie de respuesta en la obtención de antocianinas.



Con base a los resultados en el proceso de extracción de antocianinas, se determinó que mientras mayor es la relación MV/VD existe un incremento en el rendimiento del extracto del pigmento. En estudios relacionados con extracción de antocianinas y evaluación de la capacidad de antioxidante. Heras et al., (2013) mencionan que la extracción incrementa con el aumento del volumen de disolvente, lo que puede deberse a la facilidad de extracción por la solubilidad que presentan los compuestos de la muestra, además del coeficiente de difusión del disolvente líquido que favorece la cinética de desorción de los compuestos de la matriz. Dentro del diseño experimental se deduce que es óptimo trabajar con relaciones masa/disolvente que involucre mayor volumen de disolvente a mayor tiempo de extracción en etanol acidificado, dando paso a futuros estudios que consideren partir de las condiciones óptimas en este análisis.

3.2 Microencapsulación de antocianinas

Evaluadas las condiciones óptimas de la extracción de antocianinas a partir de la corteza de *Raphanus sativus*, se extrajo a mayor escala 180 g de material vegetal en 5400 ml de disolvente a una temperatura de 70 °C durante 45 min. Luego del filtrado se obtuvo 4300 ml de extracto, el cual fue evaporado en un rotoevaporador al vacío (IKA HB10) a 68 °C, con el fin de eliminar gran parte del disolvente y obtener un concentrado (370 ml) rico en

compuestos de alto valor como las antocianinas con un porcentaje de sólidos totales de 35,65 %.

Una vez obtenido el extracto concentrado, se preparó la mezcla polimérica para una relación 80:20 del concentrado, donde se determinó que a partir de 35,65 g del sólido total (en una muestra de 100 ml), se debe agregar 143 g de maltodextrina y 446 ml de agua destilada. La mezcla fue homogenizada y a partir de esta, se microencapsuló 400 ml del total de la solución, dando un aproximado de 220 g de microencapsulado. La maltodextrina brinda un efecto protector que permite conservar las propiedades oxidativas del pigmento, además que mejora sus condiciones de almacenamiento, manejo y extiende su vida útil (N. Gómez, A. López, E. Palou, 2017).

Tabla 4.

Resultados de la eficiencia de la microencapsulación.

<i>Replicas Dilución 1/200</i>	1	2	3	\bar{Abs} (509 nm)	Concentración (g/ml)	Eficiencia (%)
Abs en agua	0.5591	0.5587	0.5559	0.5579	19.8307	88.1698
Abs en etanol	0.0692	0.0644	0.0644	0.0660	2.3460	

La Tabla 4 muestra una eficiencia de encapsulación superior al 80%, cuyo valor es óptimo considerando las condiciones de los parámetros del microencapsulado, donde la temperatura de entrada fue 150 °C y de salida 80 °C. De acuerdo a González & Martínez (2015) en el proceso de microencapsulación mediante aspersión, existen factores que pueden alterar la calidad de las partículas esféricas obtenidas, por ejemplo las características del fluido alimentado al Spray Dryer (viscosidad, fluidez, etc), condiciones de la corriente de gas de secado (flujo, presión y temperatura), el tipo de atomizador que se emplea y también de la interacción entre el aire caliente y las gotas en la cámara de secado.

Cabe mencionar que el incremento de la temperatura de alimentación puede provocar una evaporación y producir grietas en la membrana, lo que conlleva a una liberación prematura y degradación del ingrediente encapsulado. Mientras que cuando la temperatura de entrada del aire es baja, ocurre una disminución en la evaporación, lo que provoca la formación de

microcápsulas de alta densidad, alto contenido de agua, poca fluidez y facilidad de aglomeración. Por lo que, se debe tener en cuenta que la temperatura de entrada del aire es directamente proporcional a la velocidad de secado de la microcápsula y al contenido final de agua (González & Martínez, 2015).

3.3 Análisis por espectrofotometría infrarroja FT-IR

Este tipo de técnica se basa en la incidencia de la luz infrarroja que atraviesa una muestra de interés, siendo capaz de distinguir sustancias con diferencias estructurales y funcionales, ya que estudia los fenómenos de interacción entre la radiación de origen infrarrojo y la materia (Mondragón, 2020).

Según Serrano (2018) dicha técnica utiliza la capacidad de los átomos para absorber frecuencias infrarrojas que coincidan con su frecuencia de vibración interna, lo que genera un espectro de absorción específico para los enlaces químicos dentro de la muestra que se analiza.

La Figura 3 ilustra los resultados del análisis por espectrofotometría FT-IR de la muestra del extracto concentrado, microencapsulado y del polímero agregado. La Figura 3A, presenta los grupos químicos característicos de las antocianinas de *Raphanus sativus* del extracto, donde se obtuvo un pico de 1714 cm^{-1} . La Figura 3B se observa los flavonoides microencapsulados con maltodextrina, obteniendo un pico de $1715,21\text{ cm}^{-1}$. A diferencia de ambas gráficas FT-IR, la Figura 3C muestra un pico más pequeño.

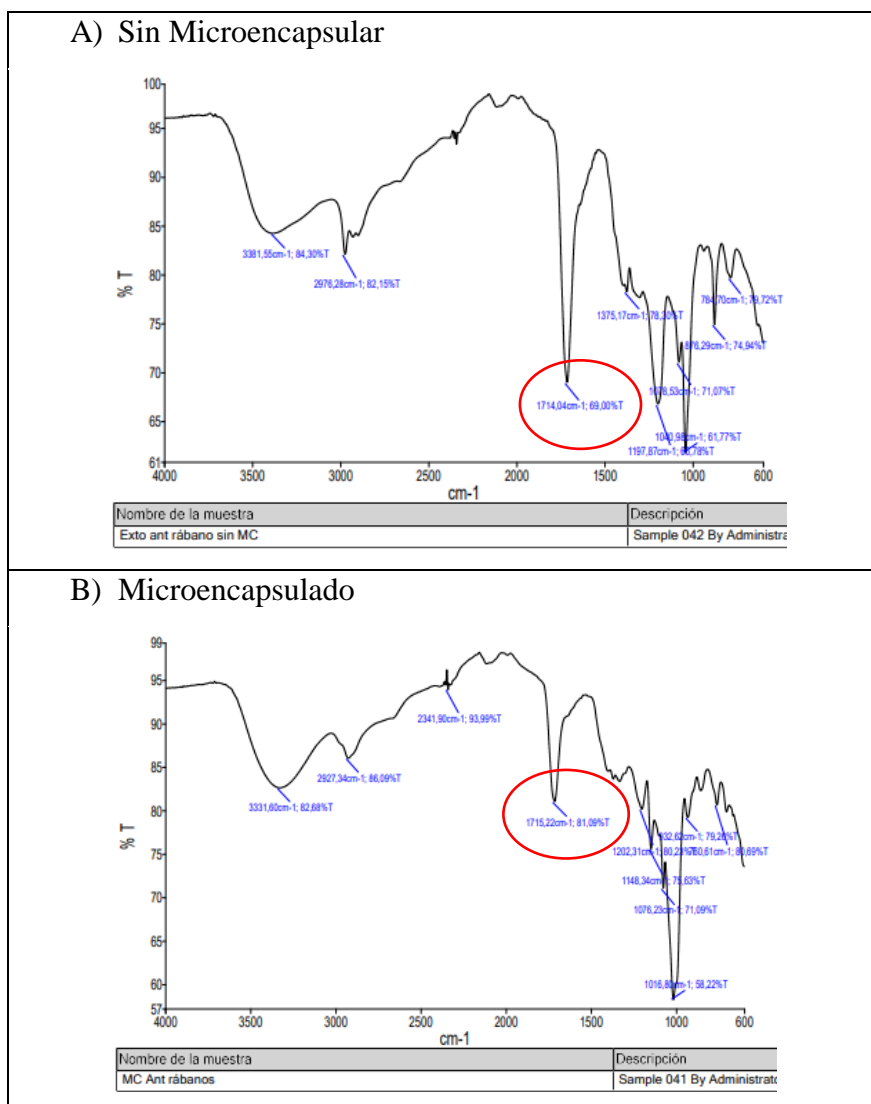
Un estudio similar acerca de la Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante realizada por Barragán et al. (2018) reflejaron que los espectros FT-IR son únicos para cada estructura de antocianina, ya que poseen grupos funcionales propios, por ejemplo: las características de absorción del C=O se encuentra entre $1680\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$, en la estructura de los anillos aromáticos la absorbancia va entre $1600\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ y para el caso de -OH quelatado o-hidroxiketona va entre $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

Por otro lado, a un rango espectral de $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ se analizó una muestra del extracto microencapsulado diluido (1/20), donde pone en manifiesto un pico característico asociado con la molécula del agua $3341,67\text{ cm}^{-1}$ y un pico característico de interés (antocinina Mc)

que aparece alrededor de $1633,28\text{ cm}^{-1}$ ver Figura 6. Dicha evidencia denota que el agua que posee un pico de 3350 cm^{-1} puede afectar a todo el espectro FTIR de una muestra ya que levanta el espectro de una muestra que la contiene, lo cual hace que la configuración de los picos cambie en amplitud (Mondragón, 2020). Se puede notar claramente en Anexo 7.

Figura 4.

Análisis de espectrofotometría infrarroja FT-IR en muestras de antocianinas de Raphanus s. sin microencapsular, microencapsulado y el polímero empleado (maltodextrina).



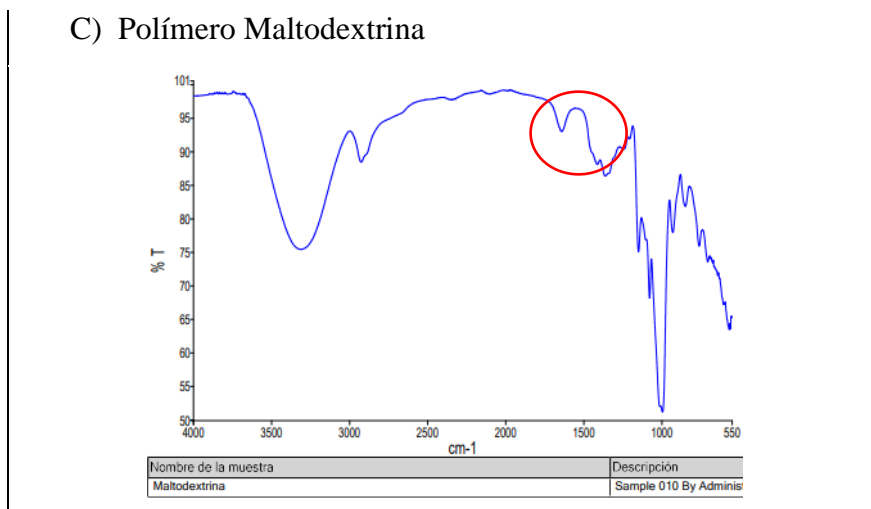
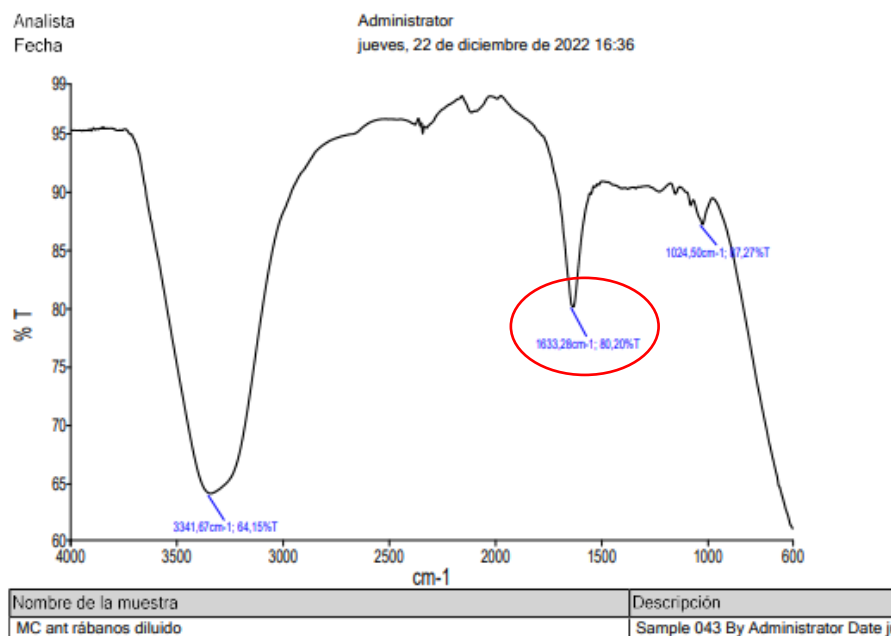


Figura 5.

Espectro FT-IR del microencapsulado de antocianinas con una dilución 1/20.



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

El ensayo de DPPH fue determinado espectrofotométricamente en base a la metodología descrita por (Bobo-García et al., 2015) donde explica que para la determinación de la capacidad antioxidante de los extractos, es necesario construir una curva estándar de Trolox desde (50-500 $\mu\text{mol/L}$). Según Ramos et al. (2010) la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

(DPPH) es un radical libre estable, debido a que posee un electrón desapareado sobre su molécula que no se dimeriza. El traslado del electrón intensifica su color violeta, el cual absorbe a 515 nm al reaccionar con el sustrato antioxidante, porque éste le dona un átomo de hidrógeno y su color violeta se desvanece, este cambio de color en absorbancia es cuantificado como capacidad antioxidante después de 30 a 60 minutos de reacción redox.

Tabla 5.

Determinación del porcentaje de inhibición mediante el método de DPPH.

FD	Abs	% Inhibition	PROMEDIO	Curva Trolox $x = \frac{y - 1.1436}{0.1758}$	PROMEDIO x ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	
R1	0.489	82.83295		464.67206		
R2	0.468	78.79138		441.68247		
R3	1/200	0.484	81.87067	79.71517	459.19835	446.93723
R4	0.470	79.17629		443.87195		
R5	0.453	75.90454		425.26133		
R1	0.599	104.00308		585.09374		
R2	0.503	85.52733		479.99846		
R3	1/100	0.509	86.68206	90.91609	486.56691	510.65125
R4	0.519	88.60662		497.51434		
R5	0.525	89.76135		504.08279		
R1	1.053	191.37798		1082.10684		
R2	1.064	193.49500		1094.14901		
R3	1/10	0.941	169.82294	181.44727	959.49568	1025.61813
R4	0.971	175.59661		992.33796		
R5	0.978	176.94380		1000.00115		

La tabla 5, muestra los resultados de la capacidad de adquisición de los flavonoides de la muestra sobre el radical DPPH, donde se observa que en el análisis del factor de dilución (FD) 1/100 el microencapsulado del extracto rico en antocianinas de la corteza de rábano tuvo una eficiencia para inhibir el radical DPPH con 90.19%. En un estudio similar Villanueva et al. (2010) obtuvieron porcentajes de inhibición de 92.89% para la cáscara del fruto de camu-camu (corteza con presencia de antocianinas de color rojo), aparentemente los resultados del FD: 1/100 presentan alta eficiencia para inhibir el radical DPPH. Sin embargo,

dentro de la curva de Trolox (x=concentración de DPPH) el valor se encuentra alejado del centro de la recta. A diferencia del FD: 1/200 donde se obtuvo un porcentaje de inhibición menor 79.715% y una concentración de 446.94 $\mu\text{mol l}^{-1}$ de reactivo trolox cómo se evidencia en el Anexo 7 acercándose al centro de la recta y siendo esto atribuible directamente al contenido de antocianinas. De acuerdo con Ruiz Armenteros et al., (2010), los valores a considerar correctos, son aquellos que presentan exactitud y precisión dentro de una recta determinada.

Por otro lado, Cosavalente Burgos et al., (2016) menciona que las antocianinas tienen una deficiencia de electrones debido a su estructura química, lo cual les otorga la capacidad de donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o a su vez secuestrarlos y trasladarlos en su estructura aromática. La capacidad antioxidante de las antocianinas presentes en *Raphanus sativus* son atribuidas a los compuestos polifenólicos que posee, ya que tienen una estructura altamente conjugada dentro del núcleo flavona. Es por ello que la mayor capacidad antioxidante ocurre cuando se dona un electrón o un protón (DPPH*) principalmente al radical hidrogenión liberado del hidroxilo en posición 4'.

CAPÍTULO IV:

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se determinó las condiciones óptimas de la extracción de antocianinas a partir de la corteza de rábano (*Raphanus sativus*), mediante el proceso de extracción sólido-líquido (etanol al 96% y ácido cítrico 2,5%) y la aplicación de un diseño experimental 2² analizado por un programa estadístico Statgraphics. Donde el tratamiento cuyos valores de R MV/VD y tiempo de extracción fueron 1/30 y 45 minutos respectivamente, presentaron el mayor contenido de antocianinas (182,978 mg/100g) frente a las demás variables.

Se microencapsuló antocianinas extraídas de la corteza de rábano mediante la técnica de secado por aspersión con una matriz polimérica de maltodextrina utilizada como agente microencapsulante, donde la temperatura de entrada fue 150 °C y de salida 80 °C para obtener un aproximado de 220 g de polvo fino conformado por microesferas, a partir de 400 ml del total de la solución. La eficiencia del producto obtenido fue de 88,17%, considerando que la temperatura de alimentación es el principal factor en la modificación de las propiedades de la matriz polimérica (viscosidad, fluidez y capacidad de pulverización homogénea) afectando la eficiencia.

Se evaluó la actividad antioxidante del microencapsulado de antocianinas, siendo el valor más eficiente para inhibir el radical DPPH con el FD: 1/200 donde se obtuvo un porcentaje de inhibición menor de 79.715% y una concentración de 446.94 $\mu\text{mol l}^{-1}$. De manera que, los extractos de rábano pueden emplearse como colorantes naturales en la industria alimentaria gracias a su alto poder antioxidante y compuestos bioactivos benéficos para la salud.

4.2 Recomendaciones

Realizar ensayos con diferentes solventes orgánicos y relación material vegetal/volumen del disolvente para la extracción sólido-líquido y evaluar las condiciones óptimas de reproducibilidad del método de extracción de antocianinas de rábano (*Raphanus sativus*).

Evaluar la capacidad antioxidante mediante un ensayo *in vivo* para confirmar por ambos métodos la eficiencia del microencapsulado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biocencia*, 8(2), 17–19.
- Alfaro, C., Castro, C., Sánchez, J., & Zuluaga, M. (2019). *LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DIAGRAMA DE PARETO , CAUSA EFECTO* [Corporación Universitaria de la Costa]. <https://www.studocu.com/en-us/document/corporacion-universitaria-de-la-costa/control-de-calidad/laboratorio-de-control-de-calidad-diagrama-de-pareto-causa-efecto/11275950>
- Aranda, C. (2018). *Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (Solanum spp.), variedades Puca-shungo y Yana-shungo* [Universidad Técnica de Ambato]. http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27504/4/BQ_145.pdf
- Barragán, M., Aro, J., Muñoz, A., & Rodríguez, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (*Muehlenbeckia volcanica*). *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 22(2), 161–169. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.604>
- Barragán, M., Cartagena, R., Aro, J., & Meléndez, V. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (*Coriaria ruscifolia* L) Characteristics. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(4), 419–428. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ria/v20n4/a05v20n4.pdf>
- Bastidas, V. (2019). *Evaluación de la actividad antioxidante del contenido de antocianinas microencapsuladas de mora (Rubus glaucus)* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://doi.org/10.1037//0033-2909.126.1.78>
- Begum, J. (2022). *Radish: Health benefits, nutrition, and uses*. Nourish. <https://www.webmd.com/diet/health-benefits-radish>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with

- conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Chávez, A. (2014). *Evaluación de la estabilidad de las antocianinas acilas obtenidas del camote morado, el rábano y la campanilla roja* [Universidad de Guayaquil]. http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11544/1/Cando_Castro_Carolina_Cecibel.pdf
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426–442. <https://doi.org/10.1002/fft2.94>
- Cobo, E., Gonzáles, J., & Muñoz, P. (2014). Variabilidad: El proceso de cuantificar la observación. *HH VY Y BBYM B ÑÑM*.
- Cosavalente Burgos, K. S., Ruiz Reyez, S. G., & Ganoza Yupanqui, M. L. (2016). Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* “Arándano”. *Ucv-Scientia*, 8(1), 44–48. <https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v8n1a5>
- da Silva, P. T., Fries, L. L. M., de Menezes, C. R., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., Bastos, J. de O., & da Silva, C. de B. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciencia Rural*, 44(7), 1304–1311. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130971>
- Dagnino, J. (2014). Bioestadística y Epidemiología: Análisis de Varianza. *Chil Anest*, 43(306), 310. <https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n04.07.pdf>
- Del Ángel, M., García, P., Lagunes, L., García, R., & Cabrera, E. (2015). Aplicación de metodología de superficie de respuesta para la degradación de naranja de metilo con TiO₂ Sol-Gel sulfato. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 31(1), 99–106. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-49992015000100008&script=sci_abstract
- Gamba, M., Asllanaj, E., Raguindin, P. F., Glisic, M., Franco, O. H., Minder, B., Bussler, W., Metzger, B., Kern, H., & Muka, T. (2021). Nutritional and phytochemical

- characterization of radish (*Raphanus sativus*): A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 113, 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.045>
- Gomez, F. (2021). Evaluación de rendimiento de 4 variedades de rábano (*Raphanus sativus* L.) en el cantó arenillas. En *Universidad Técnica de Machala*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/17473/1/TTUACA-2021-IA-DE00055.pdf>
- González, E., & Martínez, O. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 180–192.
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antio[idante. *Original Breve*, 15(1), 57–60. <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
- Gutiérrez, R. M. P., & Perez, R. L. (2004). *Raphanus sativus* (Radish): their chemistry and biology. *TheScientificWorldJournal*, 4(16), 811–837. <https://doi.org/10.1100/tsw.2004.131>
- Heras, I., Alvis, A., & Arrazola, G. (2013). Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Berenjena (*Solana melonera* L.). *Información tecnológica*, 24, 93–102. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000500011>
- Mondragón, P. (2020). La espectroscopia FTIR-ATR aplicada al análisis de alimentos y bebidas. *CIATEJ*, 34. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/744>
- Montero, R. (2016). *Modelos de regresión lineal múltiple* [Universidad de Granada]. https://www.ugr.es/~montero/matematicas/regresion_lineal.pdf
- N. Gómez, A. López, E. Palou, M. J. (2017). Determinación de la eficiencia de encapsulación y oxidación del aceite esencial de canela microencapsulado mediante secado por atomización y evaluación de sus propiedades. *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*, 2, 588–594. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume2/3/10/96.pdf>

- Negrete, F., & Secaira, L. (2016). *Elaboración y estandarización de microencapsulados de aceites esenciales de cúrcuma (Curcuma longa) y jengibre (Zingiber officinale) como aditivos nutricionales para piscicultura* [Universidad Politécnica Salesiana, Sede Quito]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12562/1/UPS-QT10304.pdf>
- Ozaeta, L. (2015). *EVALUACIÓN DE UN EXTRACTO VEGETAL PARA UTILIZARSE COMO INDICADOR ÁCIDO-BASE A PARTIR DEL CONTENIDO DE PIGMENTOS ANTOCIÁNICOS, PRESENTES EN LA CÁSCARA DE RÁBANO ROJO (Raphanus sativus var) A NIVEL LABORATORIO* [Universidad de San Carlos de Guatemala]. [http://www.repositorio.usac.edu.gt/3190/1/Lourdes Carolina Ozaeta Siliezar.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/3190/1/Lourdes%20Carolina%20Ozaeta%20Siliezar.pdf)
- 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](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29999/1/BQ%20192.pdf)
- Ramos, F., Muñoz, A., Alvarado, C., & Yáñez, J. (2010). Antocianinas , polifenoles, actividad anti-oxidante de sachapapa morada (Dioscorea trifida L.) Y evaluación de lipoperoxidación en suero humano. *Rev. Soc Química*, 76(1), 61–72.
- Riera, A. (2020). *Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de la planta sangorache (Amaranthus quitensis)* [Universidad Técnica de Ambato]. [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31405/1/BQ 232.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31405/1/BQ%20232.pdf)
- Ruiz Armenteros, A. M., García Balboa, J. L., & Mesa Mingorance, J. L. (2010). Error, Incertidumbre, Precisión Y Exactitud, Términos Asociados a La Calidad Espacial Del Dato Geográfico. *Universidad De Jaén*, 8. http://coello.ujaen.es/congresos/cicum/ponencias/Cicum2010.2.02_Ruiz_y_otros_Error_incertidumbre_precision.pdf
- Sepúlveda, C. T., & Zapata, J. E. (2019). Efecto de la Temperatura, el pH y el Contenido en Sólidos sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante del Extracto de Bixa orellana L. *Información tecnológica*, 30(5), 57–66. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000500057>
- Serna-Saldivar, S. O., Gutiérrez-Uribe, J. A., & García-Lara, S. (2016). Phytochemical Profiles and Nutraceutical Properties of Corn and Wheat Tortillas. *Tortillas: Wheat*

Flour and Corn Products, 65–95. <https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-88-5.50003-7>

Serrano, J. L. (2018). Espectroscopía infrarroja 1-Fundamentos. *Instrumentacion y métodos de análisis químico*, 35.

Sotomayor, M., & Vargas, D. (2017). *Optimización de extracción, microencapsulación y evaluación de la capacidad antioxidante de antocianinas de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa) mediante secado por aspersión* [Escuela Agrícola Panamericana]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6071/1/AGI-2017-049.pdf>

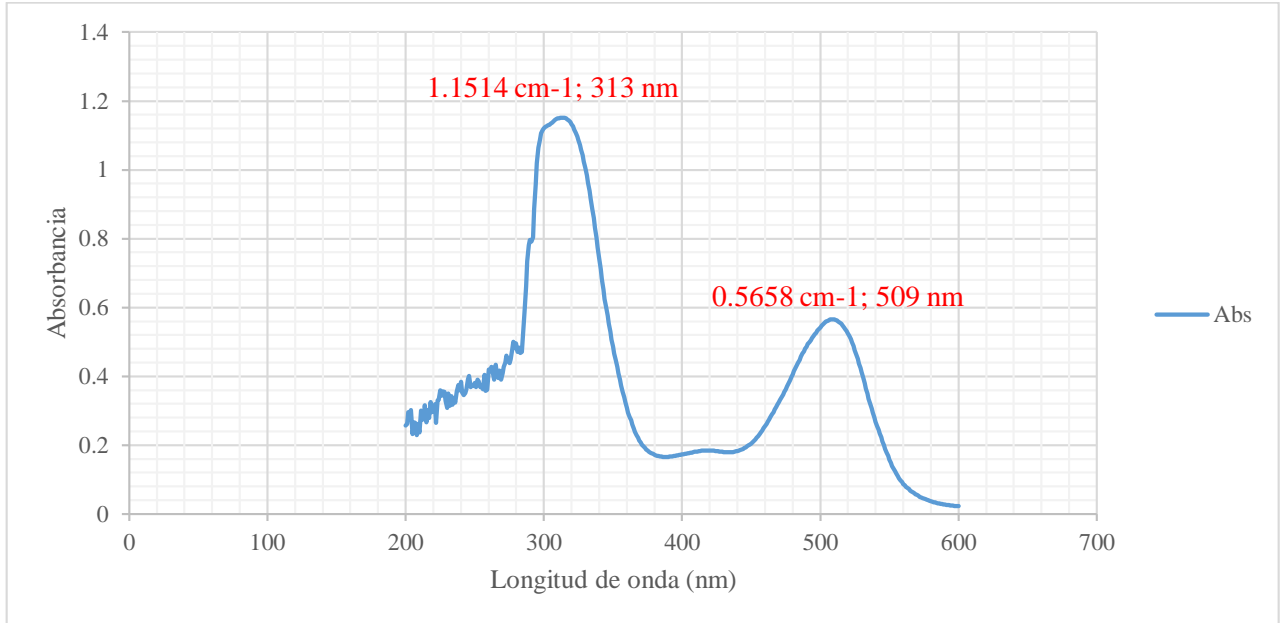
Taco, M. (2017). *Uso de pigmentos naturales de mortiño (Vaccinum floribundum) como sensibilizadores en celdas solares DSSC* [Escuela Politécnica Nacional]. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19011/3/CD-8408.pdf>

Valdés, G. (2018). *ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE PROCESO EN LA MICROENCAPSULACIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN* [Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/94947>

Villanueva, J., Condezo, L., & Ramirez, E. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 30(SUPPL. 1), 151–160. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612010000500023>

ANEXOS

Anexo 1. Espectro obtenido en la determinación de antocianinas presentes en la corteza de rábano (*Raphanus sativus*).



Anexo 2. Datos obtenidos del proceso de extracción y cuantificación de antocianinas de rábano frente a diferentes tratamientos con respecto a la Relación Material Vegetal/Volumen de Disolvente y el tiempo.

N°	R Mv/D (t)	VI inicial	Vl. Liq. Extraído (ml)	Peso MV (g)	%Humedad	%SST=100-%H	Masa Sólido Extraído	Rendimiento	ABS (509 nm)	Concentración
1	1/20 (30min)	100	59	5	95.130	4.870	2.873	57.466	0.7687	156.854
					95.230	4.770	2.814	56.286	0.7680	156.712
					95.590	4.410	2.602	52.038	0.7681	156.732
2	1/20 (45min)	100	59	5	96.200	3.800	2.242	44.838	0.6535	133.342
					96.620	3.380	1.994	39.882	0.6534	133.322
					96.950	3.050	1.800	35.989	0.6536	133.363
3	1/30 (30min)	150	94	5	96.000	4.000	3.760	75.195	0.5035	163.678
					95.720	4.280	4.023	80.459	0.5033	163.613
					96.120	3.880	3.647	72.940	0.5033	163.613
4	1/30 (45min)	150	93	5	95.470	4.530	4.213	84.256	0.5689	182.978
					95.700	4.300	3.999	79.978	0.5689	182.978
					95.340	4.660	4.334	86.674	0.5683	182.785

Anexo 3. Análisis de Varianza para Antocianinas (mg/L).

R-cuadrada	99.9994 %
R-cuadrada (ajustada por g.l.)	99.9988 %
Error estándar del est.	0.0630077
Error absoluto medio	0.0357778
Estadístico Durbin-Watson	2.81007 (P=0.8099)
Autocorrelación residual de Lag 1	-0.445015

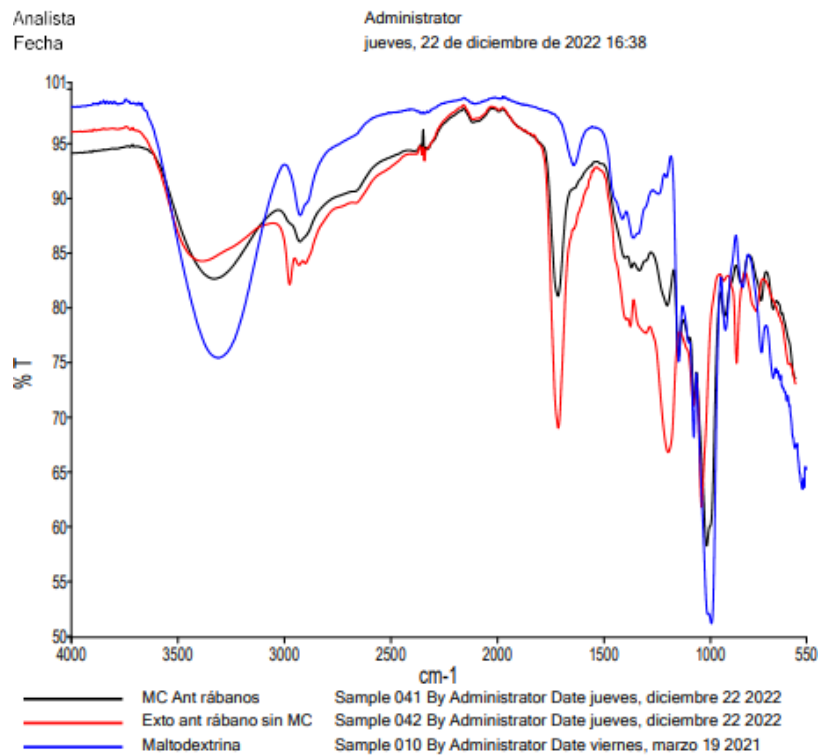
Anexo 4. Optimización de resultados de la extracción de antocianinas. Obtenido de Statgraphic.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Relación MVVD	20.0	30.0	30.0
Tiempo extracción	30.0	45.0	45.0

Anexo 5. Rendimiento del microencapsulado a mayor escala.

VI Extracto	% Humedad	%SST=100-%H	Masa Sólido Extraído	Rendimiento
	64.350	35.650	131.905	73.281
370	64.980	36.020	133.274	74.041
	64.165	35.835	132.590	73.661

Anexo 6. Espectrofotometría infrarroja FT-IR de las tres muestras analizadas entre 4000 cm-1 a 550 cm-1.



Anexo 7. Interpretación gráfica de la curva Trolox.

