



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



Tema: Obtención de un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*).

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

Autor: Jessica Marianela Ortiz Moncayo.

Tutor: Orestes López Hernández Ph.D.

Ambato-Ecuador

Febrero - 2018

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ph.D. 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 de Grados de la Facultad.

Ambato, 8 de Enero del 2018.



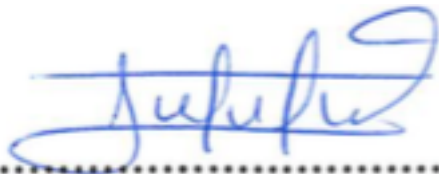
.....
Orestes Darío López Hernández Ph.D.

C.I. 1754784864

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jessica Marianela Ortiz Moncayo, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniero en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales a excepción de las citas.



.....
Jessica Marianela Ortiz Moncayo


C.I. 1803531068

AUTOR


APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE 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:



Mg. Cecilia Mercedes Carpio
C.I. 1704627650



Ing. Milton Rubén Ramos Moya Ph.D.
C.I. 1801119635

Ambato, 14 de Febrero de 2018

DERECHOS DE AUTOR

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

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



.....

Jessica Marianela Ortiz Moncayo

C.I. 1803531068

AUTOR

DEDICATORIA

“Aprendí q el coraje no es la ausencia de miedo, sino el triunfo sobre él. El hombre valiente no es aquel que no siente miedo, sino el que conquista ese miedo”.

Nelson Mandela

***Para mi Madre y mi Padre por darme la vida,
para mi hijo quien me inspira a ser mejor cada día.
Gracias por el amor y el apoyo incondicional.***

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato por haber abierto las puertas en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera de Ingeniería Bioquímica.

A la Universidad Politécnica de Chimborazo y Tec. Lic. Fausto Tapia por su apoyo y colaboración en esta investigación.

Al Ph. D. Orestes López gracias por haber compartido sus conocimientos y brindado su ayuda.

A la Ing. Cecilia Carpio por haberme extendido su ayuda en la realización del proyecto.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	Pág.
Portada.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE TABLAS.....	x
INDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA	2
1.1 Tema de investigación.....	2
1.2 Justificación.....	2
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
CAPÍTULO II	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Antecedentes investigativos	4
2.2 Hipótesis.....	6
2.2.1 Hipótesis nula.....	6
2.2.2 Hipótesis alternativa.....	6

2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis	6
2.3.1 Variables independientes	6
2.3.2. Variable dependiente.....	6
CAPÍTULO III	7
MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1. Materiales.....	7
3.2. Métodos.....	7
3.2.1. Material vegetal.....	7
3.2.2. Estudio del extracto líquido a escala de laboratorio	7
3.2.2.1. Obtención del extracto líquido.....	7
3.2.2.2. Determinación de la humedad.....	8
3.2.2.4. Determinación de fenoles totales	8
3.2.3. Estudio del extracto líquido y seco a escala de banco	9
3.2.3.1. Obtención del extracto líquido.	9
3.2.3.2. Concentración del extracto líquido.	9
3.2.4. Secado por aspersión (Spray dryer).	9
3.2.4.1. Determinación del rendimiento de secado.	10
3.2.5. Espectroscopía Infrarroja (IR).....	10
CAPITULO IV	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1. Análisis y discusión de resultados	11
4.1.1. Rendimiento de extracción y contenido de fenoles obtenidos a escala de laboratorio	11
4.1.1.2 Determinación de polifenoles totales	12
4.1.1.3 Determinación del mejor tratamiento para la extracción	12
4.1.2 Rendimiento de extracción seca y contenido de antocianinas a escala de banco ..	15
4.1.2.1. Secado por aspersión (Spray dryer).	15
4.1.2.2 Análisis estadístico del mejor tratamiento	16
4.1.3. Espectroscopía Infrarroja (IR).....	17

4.1.4 Verificación de hipótesis.....	19
CAPITULO V	20
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	20
5.1. Conclusiones	20
5.2. Recomendaciones.....	20
BIBLIOGRAFÍA	21
ANEXOS	25

ÍNDICE TABLAS

CONTENIDO	Pág.
Tabla N° 1. Tratamientos para la obtencion del mejor extracto.....	8
Tabla N° 2. Concentración de sólidos solubles totales y fenoles totales presentes en los residuos de la pulpa de mortiño.	11

INDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	Pág.
Figura N° 1. Resultados estadísticos para polifenoles totales de residuos del mortiño (<i>Vaccinium meridionale</i>).....	13
Figura N° 2. Superficie de respuesta estimada de los tratamientos	14
Figura N° 3. Resultados estadísticos para antocianinas de residuos del mortiño	16
Figura N° 4. Espectro IR de las muestras analizadas entre 4180 cm ⁻¹ y 580 cm ⁻¹	18

RESUMEN

El mortiño (*Vaccinium meridionale*) es de mucho interés comercial debido a su alto contenido de compuestos polifenólicos. En la presente investigación se obtuvo un extracto líquido rico en polifenoles a partir de residuos de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*) utilizando como disolvente agua, el extracto líquido fue secado mediante aspersion a una temperatura del aire de entrada de 150 °C y de salida de 90 °C; se microencapsuló con maltodextrina, posteriormente se midió el contenido de antocianinas en el extracto seco. Los parámetros óptimos para la obtención del extracto fueron relación residual/disolvente 1:10 y 45 minutos de extracción. El contenido de polifenoles en el extracto fue de 616,44±17,30 mg GAE/g, mientras que el contenido de antocianinas fue de 122,95±4,50 mg/100 g, con una humedad de 5,54 % y un rendimiento del 45,64 %. Dicho microencapsulado sirve como ingrediente funcional ya que aporta beneficios para la salud.

Palabras clave: extracto rico en polifenoles, mortiño, microencapsulación, ingredientes funcionales, polifenoles en alimentos.

ABSTRACT

The blueberry (*Vaccinium meridionale*) due to its high content of polyphenolic compounds is of great commercial interest. In the present research, a liquid extract rich in polyphenols was obtained from residues of the blueberry pulp (*Vaccinium meridionale*) using water as solvent, the liquid extract was spray dried at an inlet temperature of 150 °C and output temperature of 90 °C; microencapsulated with maltodextrin, the content of anthocyanins in the dry extract was subsequently measured. The optimal parameters for obtaining the extract were residual ratio / solvent 1:10 and 45 minutes of extraction. The content of polyphenols in the extract was 616.44±17.30 mg GAE/g, while in the dried extract the content of anthocyanins was 122,95±4.50 mg/100 g, with a moisture content of 5.54% and a yield of 45.64%. The resulting microencapsulate serves as a functional ingredient since it contains health benefits

Keywords: extract rich in polyphenols, blueberry, microencapsulation, functional ingredients, polyphenols in food.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad millones de personas adquieren enfermedades degenerativas como cáncer, diabetes, entre otras, debido a factores como la alimentación, contaminación del medio ambiente, entre otras; por tal motivo es de mucho interés el estudio de sustancias que ayuden a combatir enfermedades (Rodríguez, 2016).

Muchos frutos contienen sustancias antioxidantes, las cuales ayudan a disminuir la adquisición de enfermedades. Una de esas frutas es el mortiño (*Vaccinium meridionale*), conocido también como uva del monte, crece en los páramos ecuatorianos y por tanto se considera endémica, es utilizada para elaborar la tradicional colada morada. Desde hace años, debido al limitado conocimiento sobre los beneficios que aporta esta fruta, su cultivo estaba desapareciendo, pero hoy en día muchos agricultores de la zona fría del Ecuador han puesto gran empeño en la siembra de esta fruta, ya que muchas industrias alimenticias se encuentran fabricando productos funcionales, los cuales ayudan a una alimentación más segura en los humanos (Coba, Coronel et al., 2012).

El mortiño posee un alto contenido de antocianinas, estas principalmente se encuentran en la epidermis, por lo tanto, se debe trabajar al momento de procesar el fruto con toda su cáscara ya que contiene gran cantidad de antioxidantes. Las antocianinas son las encargadas de dar el color oscuro al fruto, y aparecen cuando el fruto se encuentra maduro (Gaviria, Ochoa et al. 2009).

Debido a la gran importancia de este fruto, muchos países se dedican a la producción como es el caso de Estados Unidos, siendo el mayor productor, otros países como Chile, Perú, Colombia y Ecuador no se han quedado atrás y se encuentran realizando estudios sobre este fruto.

En Ecuador existen lugares que procesan mortiño, elaborando productos como mermeladas, vino y concentrados de mortiño que sirven como ingrediente funcional para otros productos.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 Tema de investigación

OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO RICO EN POLIFENOLES A PARTIR DEL RESIDUO DE LA PULPA DE MORTIÑO (*Vaccinium meridionale*).

1.2 Justificación

Los antioxidantes son sustancias que reducen o retardan las reacciones de oxidación sobre distintos sustratos, pueden ser de tipo natural o sintético. El butil hidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA) son los antioxidantes sintéticos más utilizados en las industrias de alimentos y farmacéutica (Fuchs, 1998); sin embargo, éstos han ocasionado efectos secundarios, como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático. Por tal motivo y dada la creciente importancia de los antioxidantes en la industria farmacéutica y alimenticia es necesario la búsqueda de moléculas alternativas de origen natural con gran actividad y que no tengan efectos tóxicos (Montoya, Ospina et al., 2009).

Existe cerca de 400 especies en el género *Vaccinium*, sus frutos debido a su alto contenido de compuestos polifenólicos (ácido cinámico, flavonoles, antocianinas y antocianidinas) han sido de mucho interés, por lo que varios investigadores alrededor del mundo se han dedicado al estudio de estos (Montoya, Ospina et al., 2009).

En el mortiño (*Vaccinium meridionale*) existe gran cantidad de vitaminas como: ácido ascórbico ~14 g/100 g Fruta Fresca (FF); β -carotenos 36 μ g/100 g FF (Vasco, Riihinen et al., 2009); así como Tiamina ~ 0,05 mg/100 g FF; Riboflavina 0,05 mg/100 g FF; Niacina 0,18 mg/100 g FF (USDA, 2010); ácido patoténico ~0,09 mg/100 g FF (Santamaría, Coronel et al., 2012).

El mortiño en la actualidad está considerado como un fruto importante en la dieta alimenticia debido a sus propiedades y cualidades nutricionales. Tiene un bajo contenido de calorías por lo que favorece consumirlo en dietas, reduce el azúcar en la sangre por la presencia de compuestos fenólicos y fibra. Posee alto contenido de vitaminas como: la vitamina C que es un excelente antioxidante celular y purificadora, y la vitamina A que fortalece a la vista (Santamaría, Coronel et al., 2012).

El presente proyecto de investigación tiene como propósito utilizar los residuos de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*) debido a que, en el momento de procesamiento los residuos son desechados. Los residuos contienen alto porcentaje de antioxidantes, los cuales son de mucha importancia hoy en día puesto que ayudan a combatir enfermedades graves. Por tal motivo este proyecto busca la manera de crear un concentrado rico en polifenoles (antioxidantes) propios del mortiño (*Vaccinium meridionale*).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Obtener un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*).

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar el contenido de polifenoles presentes en el extracto seco de la pulpa mortiño (*Vaccinium meridionale*).
- Estudiar la influencia de la relación entre residual-disolvente, y el tiempo de extracción en la obtención de un extracto rico en polifenoles.
- Obtener un extracto seco rico en polifenoles mediante el secado por aspersión.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes investigativos

En el norte de los Andes se cultiva el mortiño (*Vaccinium meridionale*) una planta muy rica en nutrientes (Luteyn, 1996). Es una fruta que se puede consumir cruda o también se utiliza para la elaboración de dulces, tortas, helados, pulpas, mermeladas y vinos (Pérez & Valdiviezo, 2007). Tiene la ventaja de ser congelada sin alterar sus características nutricionales y organolépticas; en cuanto a sus propiedades físicas tampoco existen variaciones en volumen y peso, esto facilita el almacenamiento para su uso permanente, aún fuera de tiempo de cosecha. Las operaciones de procesado, como la concentración, permiten que los alimentos alarguen su vida útil (Luna, 2015).

El mortiño (*Vaccinium meridionale*) es cultivado entre los meses de septiembre y noviembre, proviene de los páramos ecuatorianos. Estas frutas son ricas en sustancias antioxidantes como los polifenoles que son metabolitos secundarios presentes en las plantas (Rodríguez, 2013).

Los compuestos fenólicos tienen bajo peso molecular, en su estructura por cada molécula tienen dos o más grupos fenoles, los cuales cumplen funciones importantes en las plantas tales como proporcionarles rigidez, color, protección e influyen en el crecimiento y polinización atrayendo a los insectos (Riihinen, 2005).

Los polifenoles están presentes en muchas plantas, por tener propiedades antioxidantes son estudiados con mayor atención; son un conjunto heterogéneo de moléculas que tienen la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (Maureen & González, 1999).

Los polifenoles se pueden clasificar de acuerdo a su estructura química en dos grupos: no flavonoides y flavonoides (formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado), las antocianinas se encuentran dentro del grupo de los flavonoides.

Las antocianinas son los más importantes pigmentos hidrosolubles que pueden ser detectables en una región que está a la vista de las personas. Los pigmentos son los encargados de los colores que pueden ir desde el color rojo hasta el color azul en diferentes frutas, cereales y en los distintos vegetales, y están almacenados en vacuolas de la célula. Las antocianinas tienen diferentes funciones en la planta como atraer los polinizadores para después esparcir las semillas y proteger la planta contra la radiación ultravioleta y la contaminación viral y microbiana (Castañeda & Guerrero, 2015).

En los últimos años se ha incrementado el interés por los pigmentos antociánicos, puesto que no solo da color a los productos, sino que también ayuda a reducir el riesgo de enfermedades como cáncer, diabetes; además tiene efectos antiinflamatorios, ayuda a la agudeza visual (Carrera, 2013).

Las antocianinas ofrecen demasiadas ventajas como suplentes potenciales de muchos colorantes artificiales, sin embargo, su baja estabilidad y el déficit de material vegetal, limitan su aplicación en el comercio (Garzón, 2008).

Las antocianinas son muy estables a pH ácido, mientras que su estabilidad disminuye cuando el pH se aproxima a 7, incluso a pH mayor a 7, estas se destruyen (Salinas, Martínez et al., 2003).

La espectroscopía infrarroja es una técnica de análisis, que sirve para obtener información referente a los procesos de absorción y emisión sobre las moléculas presentes en la materia. Es un método de medida de la absorción de la radiación en un rango de longitudes de onda, cuando ésta pasa a través de una capa delgada de sustancia. Permite identificar sustancias con diferencias estructurales. De las tres regiones de infrarrojo (cercano, medio y lejano), la región comprendida entre 4000 y 400 cm^{-1} es la más empleada para fines de identificación (Valenciaga & Oliveira, 2006).

2.2 Hipótesis

2.2.1 Hipótesis nula

No se obtendrá un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa del mortiño (*Vaccinium meridionale*) usando parámetros óptimos de tiempo y relación residual/volumen disolvente.

2.2.2 Hipótesis alternativa

Se obtendrá un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa del mortiño (*Vaccinium meridionale*) usando parámetros óptimos de tiempo y relación residual/volumen disolvente.

2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis

2.3.1 Variables independientes

Tiempo, relación residual/volumen disolvente

2.3.2. Variable dependiente

Concentración de polifenoles totales

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Residuos de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*) (Pujilí, Ecuador), Folin-Ciocalteu (FCR), Carbonato de sodio (Spectrum®, USA), maltodextrina (DE 10 MEELUNIE B.V), agua destilada, agua potable.

3.2. Métodos

3.2.1. Material vegetal

Los residuos de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*) se recogieron de los desechos de la empresa Andes Kinkuna S.A. ubicada en el cantón Pujilí, Cotopaxi, Ecuador; dichos residuos vinieron congelados desde la planta.

3.2.2. Estudio del extracto líquido a escala de laboratorio

3.2.2.1. Obtención del extracto líquido

Se descongeló el material vegetal, después se unificó el mismo. Se colocó en enlarmeyers pyrex de 500 ml de capacidad el material vegetal y agua destilada, esta mezcla se dejó hervir (92 °C) en una plancha de calentamiento con agitación (Isotemp, Fisher Scientific, USA). Una vez alcanzada la temperatura de ebullición se evaluó el tiempo de extracción a 15, 30 y 45 minutos, y la relación residual/agua a 1:10 (50 g/520 ml), 1:15 (33,3 g/520 ml) y 1:20 (25 g/520 ml) para obtener una concentración mayor de polifenoles.

Se utilizó un diseño 3^2 , donde se evaluó la relación residual/agua a tres niveles (1:10, 1:15 y 1:20) y efecto del tiempo (15, 30 y 45 min) en el proceso de extracción de polifenoles del residuo de la pulpa del mortiño, utilizando los valores de rendimiento de extracción de sólidos solubles totales (SST) y de polifenoles para la evaluación del proceso.

Tabla N° 1. Tratamientos para la obtención del mejor extracto.

Tratamientos	Relación (R/D)	Tiempo (min)
M1	1:15	30
M2	1:10	45
M3	1:20	15
M4	1:20	45
M5	1:10	15
M6	1:10	30
M7	1:20	30
M8	1:15	15
M9	1:15	45

3.2.2.2. Determinación de la humedad

La humedad del extracto vegetal se realizó mediante la balanza infrarroja (Citizen, USA) por duplicado, se colocó aproximadamente 3 g del extracto en el porta muestras de la balanza y se esperó hasta que la balanza de su valor final.

3.2.2.3. Determinación de sólidos solubles totales (SST)

El porcentaje de sólidos solubles totales se determinó utilizando la balanza infrarroja (Citizen, USA) por duplicado. Se colocó aproximadamente 3 g del extracto en la balanza, se esperó el tiempo necesario hasta llegar al porcentaje final, el porcentaje de humedad que se obtuvo se restó del 100 % y el resultado fue el porcentaje de sólidos totales.

3.2.2.4. Determinación de fenoles totales

Para la cuantificación de los fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu (1927). Las muestras 2 (50 g/520 ml) por 45 min y 6 (50 g/520 ml) por 30 min, se encontraban muy concentradas por lo que fue necesario utilizar un factor de dilución 1:4. En las muestras restantes no fue necesario realizar ninguna dilución puesto que se encontraban dentro del rango de la curva estándar de ácido gálico (Vasco, Riihinen et al., 2009) para realizar los cálculos correspondientes. En tubos de ensayo se colocó 0,1 ml de extracto líquido de la pulpa de mortiño previamente diluido en el caso de ser necesario y centrifugado por 10 min a 13000 rpm, y 0,1 ml de Folin-Ciocalteu, se dejó reaccionar por 3 minutos en el vórtex (Mixer, Reino Unido), después se agregó 2 ml de carbonato de

sodio (75 g/L) Finalmente se completó el volumen con agua destilada en cada uno de los tubos hasta llegar a los 5 ml, se esperó 1 hora, este proceso se realizó por triplicado. Se midió la absorbancia de cada una de las muestras en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH, USA) a una longitud de onda de 750 nm .

3.2.3. Estudio del extracto líquido y seco a escala de banco

3.2.3.1. Obtención del extracto líquido.

El mejor ensayo realizado a escala de laboratorio se escaló a nivel de banco, para esto se utilizó un recipiente de acero inoxidable en el cual se colocó 1 kg de material vegetal con 10 L de agua destilada, se esperó que la mezcla hierva (92 °C), se agitó debido a la gran cantidad de mezcla que existía, se mantuvo hirviendo la mezcla por 45 min, siendo estos los parámetros óptimos para obtener un rendimiento alto de polifenoles, se filtró y se midió el volumen final obtenido.

3.2.3.2. Concentración del extracto líquido.

Se colocaron 6315 ml de extracto líquido en el rotoevaporador (IKA, ALEMANIA), se sometió a calentamiento a 80 °C con una rotación máxima de 200 rpm, se concentró hasta un volumen de 279 ml de líquido. Se determinó los sólidos totales y concentración de antocianinas. Para la determinación de antocianinas se pesó 0,0048 g de muestra en tubos de ensayo, se agregó 4,5 ml de agua destilada, se agitó en el vórtex (Mixer, Reino Unido), y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH, USA) a una longitud de onda de 535 nm, se realizaron cuatro réplicas para obtener un valor más exacto.

3.2.4. Secado por aspersión (Spray dryer).

Se mezcló 250 ml de agua destilada con 154,48 g de maltodextrina, a 35 °C, con el fin de diluir la maltodextrina, después a esta solución se le añadió 200 ml de extracto líquido y posteriormente se secó mediante aspersión en un minispraydryer (Büchi B 191, Suiza) controlando las condiciones de temperatura de entrada a 150 °C y de salida a 90 °C. Se determinó el rendimiento del polvo obtenido luego del secado. También se determinó la concentración de antocianinas presentes en el polvo, para esto se pesó 0,0048g de muestra

en tubos de ensayo, se agregó 4,5 ml de agua destilada, se agitó en el vórtex (Mixer, Reino Unido), y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS (HACH, USA) a una longitud de onda de 535 nm, se realizó cuatro réplicas para obtener un valor más exacto.

3.2.4.1. Determinación del rendimiento de secado.

El rendimiento de secado se determinó a través de la siguiente expresión (López *et al.*, 2008):

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{R \times X_r}{T \times X_t} \times 100 \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde:

R: masa de polvo obtenido (g), *X_r*: [(100-humedad del polvo)/100], *T*: volumen de extracto alimentado (mL), *X_t*: concentración de sólidos en el extracto alimentado (g/ mL).

3.2.5. Espectroscopía Infrarroja (IR).

Se realizó una comparación entre las bandas de los grupos funcionales existentes en el extracto líquido, microencapsulado (mortiño) y en el polímero (maltodextrina) con la ayuda del espectrofotómetro de infrarrojo (JASCO FT/IR- 4100, JAPAN), ubicado en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Se colocó una mínima cantidad de cada muestra en el porta muestras de seleniuro de zinc y se realizó el barrido espectral utilizando el programa Spectra Analysis. Se seleccionó los picos más relevantes para ubicar los grupos funcionales que posee cada muestra.

Se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII, para analizar el contenido de polifenoles totales (extracto líquido) y antocianinas (extracto seco).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis y discusión de resultados

4.1.1. Rendimiento de extracción y contenido de fenoles obtenidos a escala de laboratorio

A continuación, en la Tabla N° 2 se muestra los resultados obtenidos en cuanto a concentración de sólidos y fenoles totales en cada uno de los tratamientos realizados.

Tabla N° 2. Concentración de sólidos solubles totales y fenoles totales presentes en los residuos de la pulpa de mortiño.

Tratamientos	Relación (R/D)	Tiempo (min)	Volumen de extracto obtenido (ml)	Concentración de sólidos (SST) (% p/v)	Fenoles totales (mg GAE/g)
M1	1:15	30	470	0,19±0,06	163,56±14,17
M2	1:10	45	435	0,26±0,10	616,44±17,30
M3	1:20	15	495	0,14±0,04	114,30±4,24
M4	1:20	45	465	0,23±0,01	143,19±3,61
M5	1:10	15	450	0,23±0,05	143,00±0,56
M6	1:10	30	435	0,20±0,03	719,41±19,16
M7	1:20	30	480	0,25±0,06	145,41±2,31
M8	1:15	15	460	0,17±0,04	163,19±1,79
M9	1:15	45	435	0,24±0,03	189,67±3,64

En la Tabla N° 2 se observa que la concentración de sólidos del extracto líquido va de un rango de 0,14±0,04 a 0,26±0,10 %, y que el mejor tratamiento en cuanto a mayor concentración de sólidos es el M2, cuya concentración no es muy alta puesto que se está trabajando con residuos de la pulpa del mortiño (*Vaccinium meridionale*).

En cuanto a la humedad del extracto líquido se puede ver en el anexo 1 (Tabla N° 3) que los valores van desde un rango de 99,73±0,10 a 99,85±0,04 %, según (Vasco et al., 2009) la humedad del mortiño es de 81,0±2,0 %, es decir es una fruta con un alto contenido en agua.

4.1.1.2 Determinación de polifenoles totales

Estudios realizados por (Guerrero & Rodríguez, 2012) muestran que el mortiño de la zona andina del Ecuador posee en fruta entera un contenido de polifenoles de 1641,73 mg GAE/g, mientras que al trabajar solo con residuos de la pulpa se obtiene valores altos en los tratamientos M2 y M6, con $616,44 \pm 17,30$ y $719,41 \pm 19,16$ mg GAE/g respectivamente (Tabla N° 2). Al comparar dichos resultados se puede observar que los residuos se encuentran con un alto contenido en polifenoles que no es recomendable desecharlos, sino mejor aprovecharlos realizando los procedimientos respectivos.

4.1.1.3 Determinación del mejor tratamiento para la extracción

En el análisis del diseño se evaluó los datos obtenidos experimentalmente mediante un análisis de varianza y la optimización del experimento para obtener así el mejor tratamiento (Fig. N° 1).

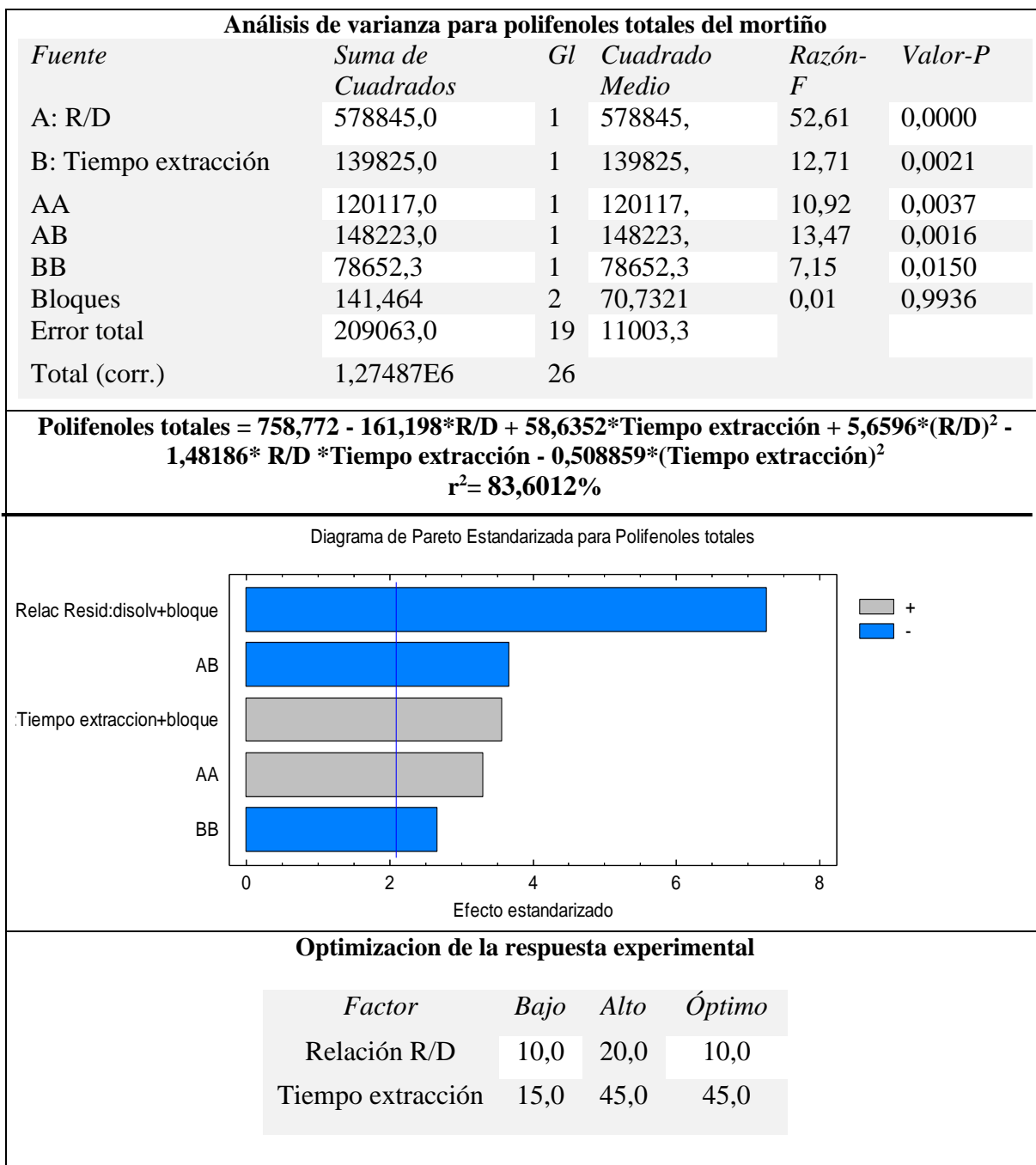


Figura N° 1. Resultados estadísticos para polifenoles totales de residuos del mortiño (*Vaccinium meridionale*) **Fuente:** STATGRAPHICS XVII

En la Fig. N° 2 se observa el análisis de varianza de polifenoles totales, en los factores: relación R/D (A), tiempo de extracción (B), interacciones AA, AB y BB, el valor-P es menor a 0,05 lo que indica que si existe diferencia significativa entre los factores estudiados.

La ecuación de polifenoles totales del mortiño en función de la relación R/D y del tiempo de extracción se ajusta a un coeficiente de determinación (R^2) de 83,60 %, por lo que es adecuada para el proceso estudiado.

La figura 1 correspondiente al diagrama de Pareto estandarizado permitió comprobar la incidencia que tienen los factores estudiados para polifenoles totales, encontrándose todos significativos.

Como se puede observar en la Fig. N° 3 el valor óptimo es 1:10 en cuanto a la relación R/D, mientras que en el tiempo de extracción es de 45 min manteniendo a una temperatura de ebullición, el tratamiento que tiene estos parámetros es el M2, por tal razón se procedió a realizar con dicho tratamiento los ensayos antes mencionados, pero a mayor escala (escala de banco).

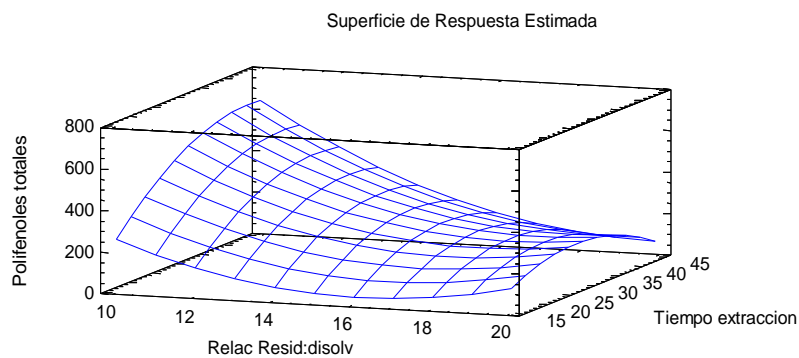


Figura N° 2. Superficie de respuesta estimada de los tratamientos

Fuente: STATGRAPHICS XVII.I

En el gráfico se muestra los efectos principales para la optimización de polifenoles, indicando un máximo a 10 de relación R/D y a 45 min para el tiempo de extracción, siendo estos los valores adecuados para lograr la mayor cantidad de polifenoles.

4.1.2 Rendimiento de extracción seca y contenido de antocianinas a escala de banco

Con el mejor tratamiento se trabajó en mayor cantidad para realizar los posteriores estudios y comprobar si se obtiene un rendimiento y una obtención de polifenoles equivalente al producido a escala de laboratorio o mayor, esto se realizó con el fin de trabajar a nivel industrial.

El volumen obtenido fue de 279 ml, dicho extracto tuvo una humedad de 80,56 % y una concentración de sólidos de 19,44 %, esto se debe a que al momento de concentrar, el agua se evaporó dejando más sólidos, lo que posteriormente ayudará a que el secado sea más factible. Mientras la muestra se encuentre más concentrada el punto de ebullición será mayor.

4.1.2.1. Secado por aspersión (Spray dryer).

El secado por aspersión se realizó a una temperatura de entrada de 150 °C y de salida de 90 °C.

Como se puede observar en el anexo 1 (Tabla N° 5), el peso final obtenido del microencapsulado es de 88,22 g, al realizar el cálculo de rendimiento con la ecuación 1 obtenemos un valor de 45,64 %, es un valor bajo debido a que al momento del secado gran cantidad de producto se queda en las paredes del equipo, donde el producto se quema, por lo que es imposible recuperarlo después de terminar el proceso de secado.

4.1.2.2 Análisis estadístico del mejor tratamiento

A continuación, en la Fig. N° 4 se muestra el análisis estadístico de comparación de las concentraciones de antocianinas del extracto líquido (sin microencapsular) y seco (microencapsulado).

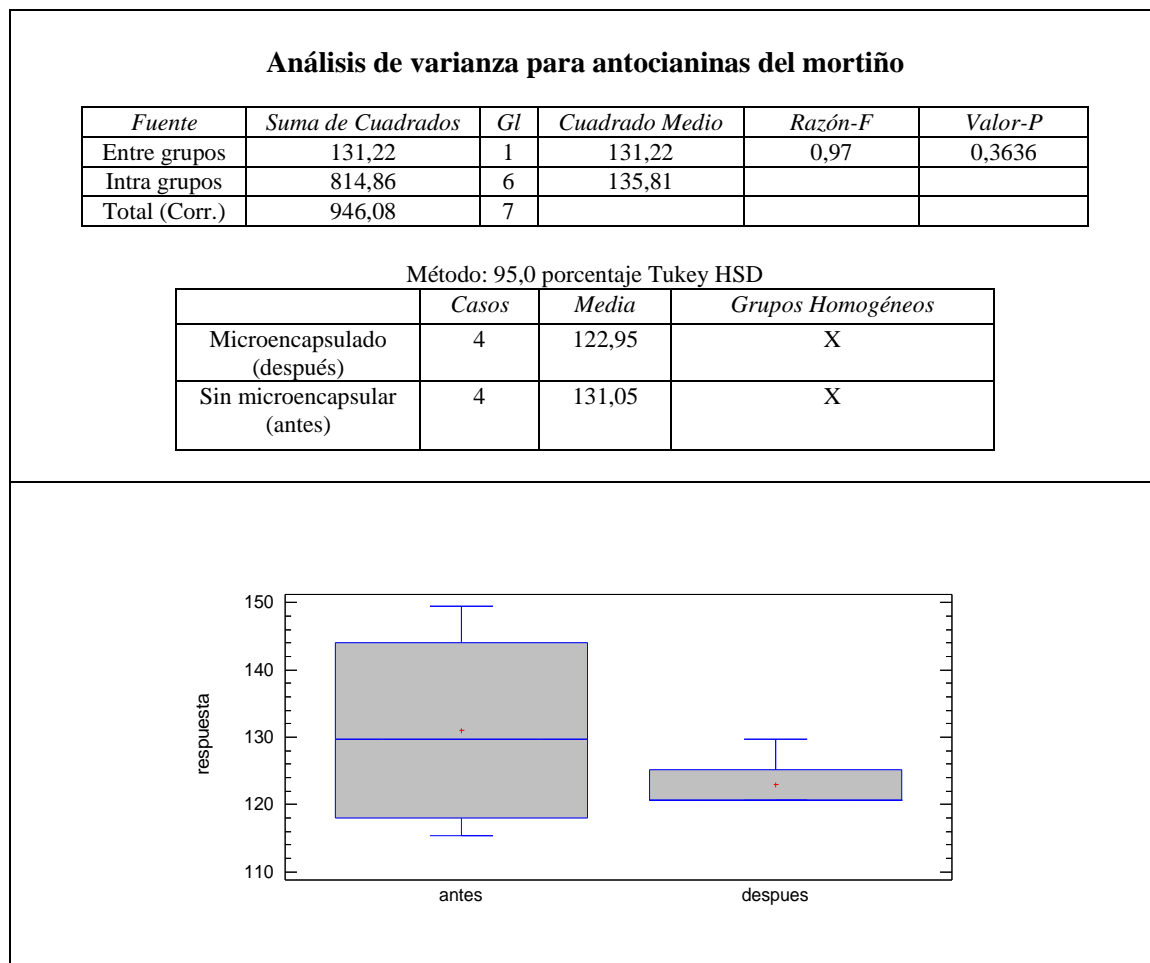


Figura N° 3. Resultados estadísticos para antocianinas de residuos del mortiño (*Vaccinium meridionale*)

Fuente: STATGRAPHICS XVI.I

Se puede observar que el valor-P es mayor que 0,05, por tal motivo no existe diferencia significativa entre las muestras evaluadas (líquida y polvo), es decir el polímero con el cual se microencapsuló la muestra no afectó a los componentes de la muestra.

Según (Gaviria, Hernández et al., 2012) en un estudio realizado el contenido de antocianinas varió desde 4,2 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF hasta 271,9 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF al final de la maduración; como se puede ver en el anexo 1 (Tabla N° 6) la concentración de antocianinas varia de 115,28 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF a 138,70 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF en la muestra líquida, mientras que en la muestra seca va de 120,69 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF hasta 129,69 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF.

4.1.3. Espectroscopía Infrarroja (IR).

Las muestras fueron analizadas mediante el software Spectra Manager, este es un complemento del equipo. Las muestras fueron analizadas en un rango de frecuencia de 4180 a 580 cm^{-1} como se observa en la Fig. N° 4.

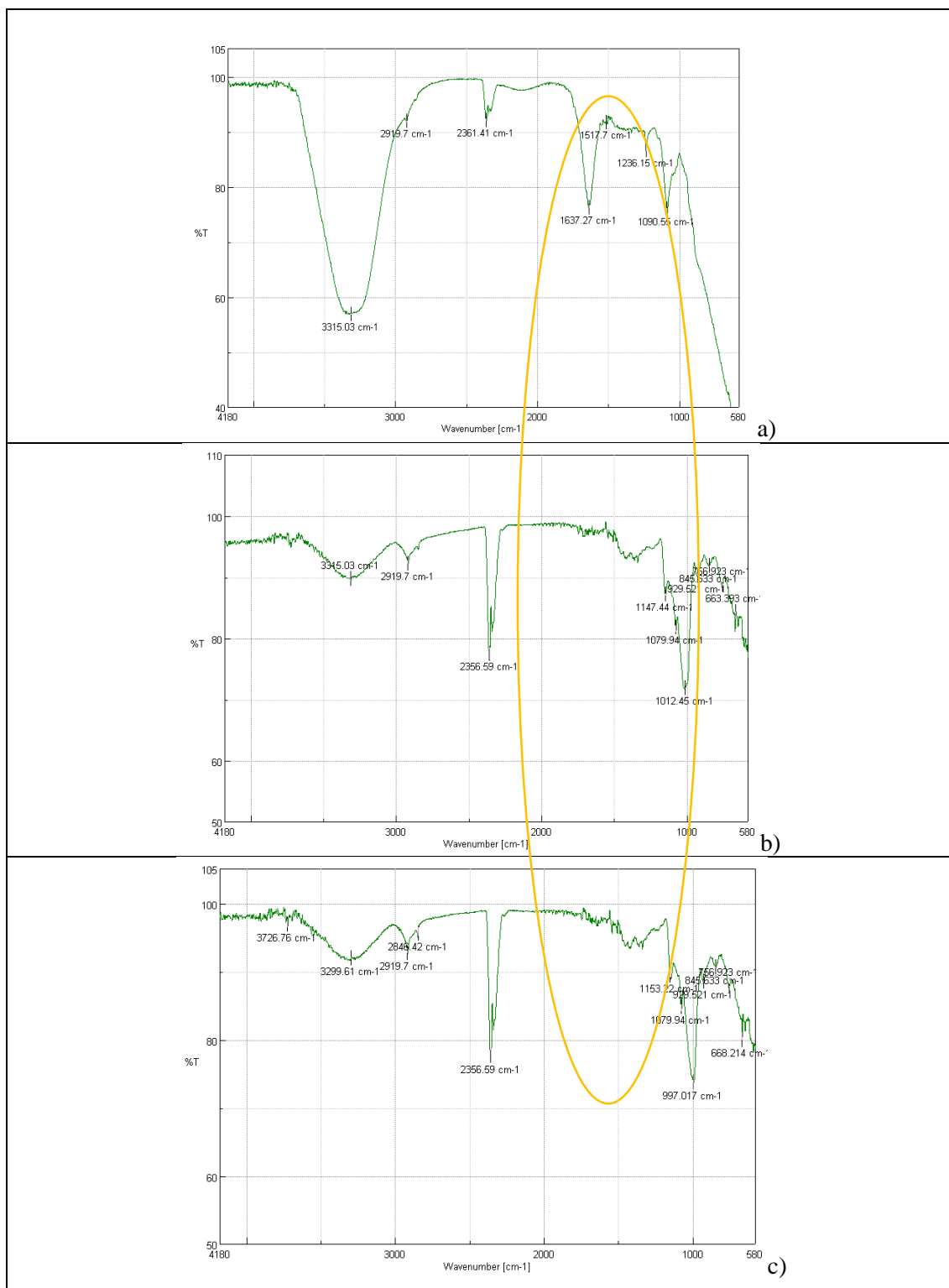


Figura N° 4 Espectro IR de las muestras analizadas entre 4180 cm^{-1} y 580 cm^{-1} .

Nota: Se observa los espectros del mortíño sin microencapsular (a), microencapsulado (b) y polímero maltodextrina (c)

El espectro del mortiño presenta picos entre 1200 y 1600 cm^{-1} , encontrándose en este rango principalmente los ROH y fenoles, el pico desaparece su intensidad al estar la muestra microencapsulada, el polímero (maltodextrina) siendo el material encapsulante no presenta ningún pico a esta frecuencia por tal motivo es favorable la microencapsulación ya que el material se encuentra protegido de factores como humedad y calor, lo que permite mantener su viabilidad y estabilidad; los microencapsulados resisten condiciones de procesamiento y empaquetado mejorando así el valor nutritivo, estabilidad, sabor, y apariencia física de los productos.

4.1.4 Verificación de hipótesis

Se obtuvo un extracto rico en polifenoles a partir de residuos de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*), para lo cual se utilizó parámetros óptimos de tiempo 45 min, relación (residual/volumen) 1/10, utilizando como disolvente el agua.

El extracto líquido o en polvo obtenido a partir del mortiño (*Vaccinium meridionale*) puede ser utilizado en la elaboración de otros productos como una sustancia funcional, por tal motivo se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se obtuvo un extracto rico en polifenoles con un valor de $616,44 \pm 17,30$ mg GAE/g, a partir del residuo de la pulpa de mortiño (*Vaccinium meridionale*).
- Se determinó el contenido de antocianinas presentes en el extracto seco encapsulado de la pulpa mortiño (*Vaccinium meridionale*), siendo este $122,95 \pm 4,50$ mg/100 g.
- Se estudió la influencia de la relación entre residual-disolvente (R/D), y el tiempo de extracción en la obtención de un extracto rico en polifenoles, siendo los óptimos 1:10 (R/D) y 45 min, cumpliendo estos parámetros se obtuvo un extracto con mayor contenido de polifenoles.
- Se obtuvo un extracto seco rico en polifenoles mediante secado por aspersion, el cual tuvo una humedad 5,54 % y un rendimiento de 45,64 %.

5.2. Recomendaciones

- Evaluar el microencapsulado en polvo en formulaciones de productos alimenticios y realizar un análisis sensorial del mismo.
- Realizar pruebas con el microencapsulado in vivo para verificar su funcionalidad en cuanto a enfermedades catastróficas.

BIBLIOGRAFÍA

- Carrera, J. M. (2013). Elaboración, caracterización y propuesta de la compota de oca (oxalis tuberosa), como alternativa complementaria en la alimentación de adultos mayores, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química.
- Castañeda, A. and J. Guerrero (2015). "Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas."
- Coba S, Coronel, P., Verdugo, D., Paredes, K., Yugsi, M., & Huachi, E. (2012). "Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional." LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida 16(2), 32-35.
- Fuchs, J. (1998). "Potentials and limitations of the natural antioxidants alpha-Tocopherol, L-Ascorbic Acid and Beta-Caroteno in cutaneous photoprotection." Free Radic Med 25(7):848-873.
- Garzón, G. A. (2008). "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión." Acta Biológica Colombiana 13(3), 156-166.
- Gaviria, C., Hernández, J., Lobo, M., Medina, C., & Rojano, B. (2012). "Cambios en la Actividad Antioxidante en Frutos de Mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante su Desarrollo y Maduración." Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín, Volumen 65, Número 1, p. 6487-6495, 2012. ISSN electrónico 2248-7026. ISSN impreso 0304-2847.
- Gaviria, C., Ochoa, C., Sánchez, N., Medina, C., Lobo, M., Galeano, P., Mosquera, A., Tamayo, A., Lopera, Y., & Rojano, B. (2009). "Actividad antioxidante e

inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW)." Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 8(6), 344-378.

Guerrero, C. & R. Rodríguez (2012). "Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en fibra dietética extraída de cultivos ancestrales andinos para su utilización como suplemento alimenticio." Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato.

Luna, C. (2015). "Estudio del contenido de Antocianinas y de la Capacidad Antioxidante en la Concentración de la Pulpa de Mortiño (*Vaccinium floribundum*) con Adición de Pulpa de Tomate de Árbol Morado (*Solanum betaceum*)". Ciencias de la Ingeniería. Quito, Universidad Tecnológica Equinoccial: 117 .

Luteyn, J. (1996). "*Vaccinium floribundum*". Recuperado el 3 de Mayo del 2012. from http://www.nybg.org/bsci/res/lutz/vaccinium_floribundum.html.

Maureen, Á. & González E. (1999). "Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida." Rev Cubana Invest Biomed 18(1): 12-14.

Montoya, C., C. Ochoa, N. Sánchez, C. Mediana, M. Lobo, P. Galeano, A. Mosquera, A. Tamayo, Y. Lopera & B. Rojano. (2009). "Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW)." Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 8(6): 519-528.

Peréz, S. & Valdiviezo C. (2007). "Colección y caracterización morfológica In Situ del mortiño (*Vaccinum floribundum* Kunt) en la sierra norte del Ecuador".

Ingeniería Agropecuaria. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador.

Riihinen, K. (2005). "Phenolic compounds in berries " Kuopion University Publications, Kuopio, Finlandia: 18-19.

Rodríguez, F. (2016). "Medio ambiente, contaminación y diabetes:¿ son especulaciones?" Medicina Interna de México 32(5): 576-579.

Rodríguez, F. S. (2013). "Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) de la comunidad de Quinticusig del cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi", QUITO: 2013.

Salinas, Y., Martínez, F., Soto, M., Ortega, R., & Arellano, J. (2003). "Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados." Agrociencia 37(6) PÁGINAS.

Santamaría, P., D. Coronel, K. Verdugo, M. Paredes, E. Yugsi & L. Huachi. (2012). "Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional." La Granja: Revista de Ciencias de la Vida 16(2), 87-95.

USDA (2010). "National nutrient database for standard reference". from (<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2184?fg=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Stats&new=>).

Valenciaga, D. & Oliveira, E. (2006). "La espectroscopía de reflectancia en el infrarojo cercano (NIRS) y sus potencialidades para la evaluación de forrajes." *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 40(3), 25-43.

Vasco, C., Riihinen, K., Ruales, J., & Kamal, A. (2009). "Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*Vaccinium floribundum*)." *J. Agric. Food Chem.* 57: 8274-8281.

ANEXOS

Anexo 1. Tablas de datos obtenidos para la investigación.

Tabla N° 3 Porcentaje de humedad, concentración de sólidos solubles totales y rendimiento de extracción de sólidos.

Tratamientos	Relación (R/D)	Tiempo (min)	Volumen de extracto obtenido (ml)	Humedad (%)	Concentración de sólidos (SST) (% p/v)	Rendimiento sólidos (%)
M1	1:15	30	470	99,80±0,06	0,19±0,06	2,69±0,88
M2	1:10	45	435	99,73±0,10	0,26±0,10	2,30±0,91
M3	1:20	15	495	99,85±0,04	0,14±0,04	2,95±0,73
M4	1:20	45	465	99,76±0,01	0,23±0,01	4,38±0,28
M5	1:10	15	450	99,76±0,05	0,23±0,05	2,12±0,46
M6	1:10	30	435	99,79±0,03	0,20±0,03	1,75±0,26
M7	1:20	30	480	99,74±0,06	0,25±0,06	4,97±1,11
M8	1:15	15	460	99,82±0,04	0,17±0,04	2,42±0,50
M9	1:15	45	435	99,75±0,03	0,24±0,03	3,22±0,33

Tabla N° 4 Absorbancia a 750 nm de los diferentes extractos de (*Vaccinium meridionale*)

Tratamiento	Abs. (750nm)
M1	0,30±0,026
M2	0,28±0,021
M3	0,21±0,008
M4	0,26±0,007
M5	0,26±0,001
M6	0,33±0,009
M7	0,26±0,004
M8	0,30±0,003
M9	0,34±0,007

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} - 0,0026}{0,0018} \quad [\text{Ec. 2}]$$

Tabla N° 5 Rendimiento del microencapsulado

W maltodextrina (g)	W agua destilada (g)	W muestra (g)	W microencapsulado (g)	Rendimiento (%)
154,48	250	200	88,22	45,64

Tabla N° 6 Concentración de antocianinas del mortiño antes y después de ser encapsuladas.

Réplicas	Muestra líquida		Muestra en polvo	
	Abs (535nm)	Cantocianinas (mg/100g)	Abs (535nm)	Cantocianinas (mg/100g)
1	0,077	138,70	0,067	120,69
2	0,064	115,28	0,067	120,69
3	0,083	149,51	0,072	129,69
4	0,067	120,69	0,067	120,69

$$C = \left(\frac{A}{\epsilon}\right) \times \left(\frac{Vol}{1000}\right) \times MW \times \left(\frac{1}{wt}\right) \times 10^6 \quad [\text{Ec. 3}]$$

Donde:

C: concentración, A: absorbancia, ϵ :absortividad molar cuaridina 3 glucósido (25,965 cm⁻¹ M⁻¹), Vol: volumen extracto, MW: peso molecular

Anexo 2. Ilustraciones del proceso de la investigación.



Fig N° 5. Obtención del residuo de mortño



Fig N° 6. Materia prima (residuos de mortño)



Fig N° 7. Concentración del extracto



Fig N° 8. Humedad del extracto



Fig N° 9. Medición de absorbancia del extracto para polifenoles

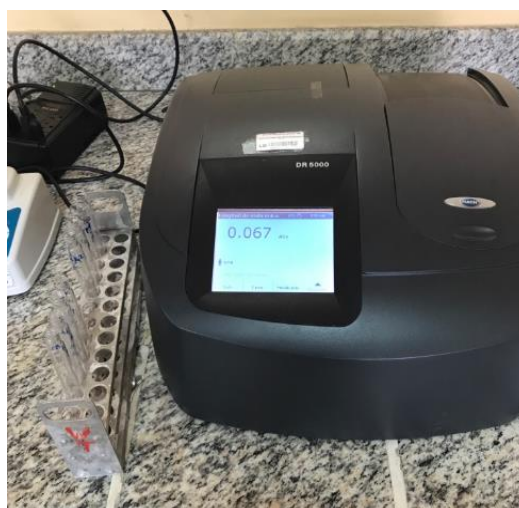


Fig N° 10. Medición de absorbancia del extracto para antocianinas

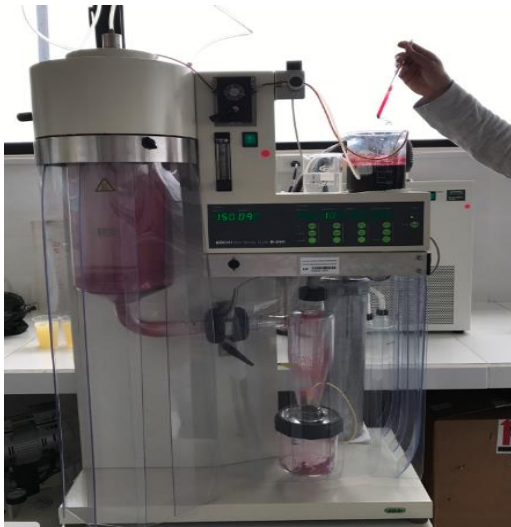


Fig N° 11. Obtención del microencapsulado de residuos del mortíño

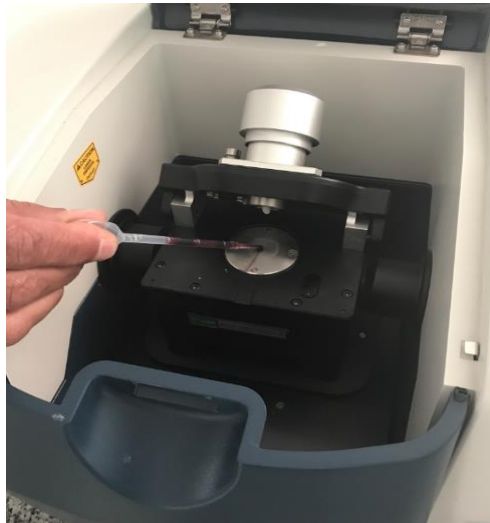


Fig N° 12. Espectroscopia Infrarroja (sin microencapsular)

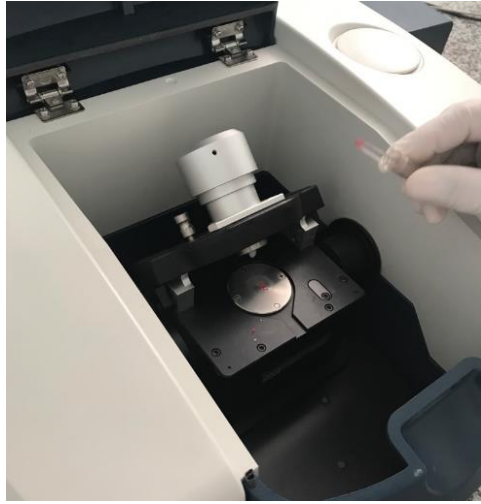


Fig N° 13. Espectroscopia Infrarroja (encapsulado)



Fig N° 14. Espectroscopia Infrarroja (polímero)