



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



**Extracción y microencapsulación de ácido ferúlico a partir de los residuos
agroindustriales de bagazo de malta de cebada como potencial antioxidante.**

Informe final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a 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 y Biotecnología.

Autor: Viviana Elizabeth Cevallos Andrade.

Tutor: PhD. Orestes Darío López Hernández.

Ambato – Ecuador

Septiembre 2022.

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr, Orestes Dario López Hernández. Ph D

Certifica:

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular, 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.

Ambato, 28 de julio del 2022.

Dr. Orestes Darío López Hernández. Ph D

C.I. 1754784864

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Viviana Elizabeth Cevallos Andrade, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Viviana Elizabeth Cevallos Andrade

C.I. 1805201397

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Mg. Liliana Patricia Acurio Arcos

Presidente del Tribunal

Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar

C.I. 0501873954

Dr. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro

C.I. 1802738102

Ambato, 25 de agosto del 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, 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.



Viviana Elizabeth Cevallos Andrade

1805201397

AUTOR

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón este proyecto de investigación a mis padres, pues sin su apoyo y sus consejos durante toda mi carrera universitaria no lo hubiese logrado.

A mi hermana, por sus palabras de aliento que siempre me motivaron a nunca rendirme.

A mi mejor amigo, mi compañero de grupo durante toda la carrera quien, aunque ya no este físicamente fue una gran persona y un excelente estudiante.

A la memoria de mi abuelito, que desde el cielo me ha guiado para que todo salga bien.

A mi tutor, que más que un docente ha sido un gran amigo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme lograr un objetivo más en mi vida, a mi madre por apoyarme en todos los ámbitos y no permitir que me rinda, a mi tío por ayudarme a culminar mis estudios universitarios, a mi padre y hermana por aconsejarme y darme ánimos en todo momentos, a mi querido tutor por la paciencia y el apoyo durante la realización de este proyecto, a mis amigos y amigas por permitir que nuestra etapa universitaria sea inolvidable, a mis compañeros de laboratorio que fueron parte de mi proyecto y me ayudaron cuando más lo necesite. A todos ellos agradezco infinitamente por haber fomentado en mí el deseo de cada día superarme y ser mejor, espero contar siempre con su valioso apoyo.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

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 DE CONTENIDOS	viii
RESUMEN	xii
B. CONTENIDOS	1
CAPITULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 Antecedentes Investigativos	1
1.1.1 Descripción de la cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L)	1
1.1.2 Descripción de la malta	1
1.1.3 Principales subproductos generados en la industria cervecera: Bagazo de malta de cebada	2
1.1.3.1 Composición fisicoquímica del bagazo de malta de cebada	2
1.1.4 Antioxidantes	4
1.1.4.1 Polifenoles: Ácido Ferúlico	4
1.1.5 Microencapsulación.....	5
1.1.5.1 Ácido ferúlico microencapsulado como potencial antioxidante	5
1.2 Hipótesis.....	6
1.2.1 Hipótesis nula.....	6
1.2.2 Hipótesis alternativa.....	6
1.3 Señalización de variables de la hipótesis	6
1.3.1 Variable dependiente.....	6
1.3.2 Variable independiente	6
1.4 Objetivos	7
1.4.1 Objetivo General	7
1.4.2 Objetivos Específicos	7
CAPÍTULO II.....	8

METODOLOGÍA.....	8
2.1 Materiales, equipos y reactivos.....	8
2.1.1 Materiales.....	8
2.2 Métodos.....	9
2.2.1 Extracción de ácido ferúlico a partir de los residuos agroindustriales de bagazo de malta de cebada.....	9
2.2.2 Microencapsulación de ácido ferúlico en matrices de maltodextrina mediante secado por aspersión.....	10
2.2.2 Porcentaje de eficiencia de la extracción de ácido ferúlico.....	10
2.2.3 Análisis infrarrojo de los extractos.....	10
2.2.4 Evaluación de la actividad antioxidante de ácido ferúlico utilizando recopilación bibliográfica.....	11
2.2.7 Análisis y procesamiento de datos.....	12
2.2.7.1 Diseño experimental.....	12
CAPÍTULO III.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
3.1.3. Extracción de ácido ferúlico a partir de los residuos agroindustriales de bagazo de malta de cebada.....	15
3.1.4. Porcentaje de eficiencia de la extracción de ácido ferúlico.....	17
3.1.5. Microencapsulación de ácido ferúlico en matrices de maltodextrina mediante secado por aspersión.....	18
3.1.6. Análisis infrarrojo de los extractos.....	19
3.1.7. Evaluación de la actividad antioxidante de ácido ferúlico utilizando recopilación bibliográfica.....	21
3.1.7.1. Técnicas para evaluar la capacidad antioxidante de ácido ferúlico.....	22
3.1.7.2. Evaluación de la actividad antioxidante.....	22
3.1.7.2.1. Técnicas <i>in vitro</i>	22
3.1.7.2.2. Reacciones SET y HAT.....	23
3.1.7.2.2.1. Método FRAP.....	23
3.1.7.2.2.2. Método TEAC/ABTS.....	24
3.1.7.2.2.3. Método DMPD.....	24
3.1.7.2.2.4. Método DPPH.....	24
3.1.7.2.3. Técnicas <i>in vivo</i>	24
3.2 Verificación de hipótesis.....	27
CAPITULO IV.....	29

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
4.1 Conclusiones	29
4.2 Recomendaciones	30
C. MATERIALES DE REFERENCIA	31
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Tejidos de las capas fibrosas superficiales de la malta de cebada	3
Figura 2 Estructura química de ácido ferúlico. Fuente:(Valladares, 2006)	4
Figura 3 Grafico caja y bigotes tipos de malta vs %AF.....	16
Figura 4 Diagrama de medias de factores A y B	16
Figura 5 Diagrama de Pareto estandarizado para Factor B tipos de malta	17
Figura 6 Espectrometría infrarroja del extracto y microencapsulado	21
Figura 7 Actividad antioxidante de ácido ferúlico obtenido de nejayote purificado	26
Figura 8 Espectros obtenidos de ácido ferúlico	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición nutricional del bagazo de malta de cebada	3
Tabla 2 Diseño experimental.....	12
Tabla 3 Distribución de los tratamientos.....	13
Tabla 4 Características fisicoquímicas de interés del bagazo de malta de cebada obtenido del proceso de elaboración de cerveza	14

RESUMEN

El extracto de ácido ferúlico (AF) obtenido a partir de los residuos agroindustriales del bagazo de malta de cebada (BSG) se microencapsuló en matrices de maltodextrina y a través de recopilación bibliográfica se determinó su potencial como antioxidante en la industria alimentaria. Se utilizaron tres tipos de malta para el estudio (Pilsen, Pale Ale y Munich) y en la extracción se utilizó un pretratamiento ácido fuerte con H₂SO₄ al 96 por ciento de pureza diluido y un tratamiento básico fuerte con NaOH al 2 por ciento donde se demostró que la malta tipo Munich posee mayor cantidad de AF.

Se determinó que el microencapsulado de AF con malta tipo munich presentó una mejor eficiencia de extracción bajo condiciones establecidas previamente para las tres maltas, en la microencapsulación mediante la técnica de secado por aspersión se logró una correcta eficiencia utilizando una matriz polimérica de maltodextrina en una relación de 35 g de agente encapsulante en 100 ml de agua destilada lo que se corroboró con el análisis mediante espectrofotometría infrarroja donde se evidenció la presencia del ácido ferúlico y a su vez como este es recubierto en la matriz polimérica perdiendo sus principales bandas al disolverse en agua, además se evaluó que, para la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto microencapsulado de ácido ferúlico deben aplicarse técnicas tanto in vitro como in vivo que permitan conocer la capacidad anti y pro oxidante del AF.

Palabras clave:

Ácido ferúlico, antioxidantes, microencapsulación, bagazo de malta, compuestos fenólicos, residuos agroindustriales.

ABSTRACT

The extract of ferulic acid (FA) obtained from the agroindustrial residues of barley malt bagasse (BSG) was microencapsulated in maltodextrin matrices and through bibliographic compilation its potential as an antioxidant in the food industry was determined. Three types of malt were used for the study (Pilsen, Pale Ale and Munich) and in the extraction a strong acid pretreatment with diluted 96 percent purity H₂SO₄ and a strong basic treatment with 2 percent NaOH were used, where it was shown that the Munich-type malt has a greater amount of AF.

It was determined that the AF microencapsulation with Munich-type malt presented a better extraction efficiency under conditions previously established for the three malts. of 35 g of encapsulating agent in 100 ml of distilled water, which was corroborated with the analysis by infrared spectrophotometry where the presence of ferulic acid was evidenced and in turn how it is coated in the polymeric matrix, losing its main bands when dissolved in water, In addition, it was evaluated that, for the evaluation of the antioxidant capacity of the microencapsulated extract of ferulic acid, techniques should be applied both in vitro and in vivo that allow knowing the anti- and pro-oxidant capacity of AF.

Keywords:

Ferulic acid, antioxidants, microencapsulation, malt bagasse, phenolic compounds, agroindustrial residues.

B. CONTENIDOS

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

1.1.1 Descripción de la cebada (*Hordeum vulgare* L)

La cebada es una planta monocotiledónea anual que es parte de la familia de las poáceas, es el quinto cereal más cultivado y consumido en el mundo tanto por animales y humanos. Normalmente se lo conoce como un cereal de invierno ya que su distribución se da en los meses de junio – julio semejante al trigo. Se destacan dos tipos de cebadas; la tremesina y la castellana de las cuales la primera mencionada es la que usualmente se utiliza en la industria cervecera debido al tamaño de sus granos (Castañeda López et al., 2004).

En el Ecuador es reconocida como uno de los cultivos con mayor importancia, ya que se producen alrededor de 48 000 has, siendo Chimborazo el principal productor a nivel nacional con 18 000 has sin embargo gran parte de los cultivos son para autoconsumo de las comunidades, sirviendo de alimento en distintas formas tales como cebada molida, mezclada con leche, etc (Castañeda López et al., 2004).

1.1.2 Descripción de la malta

Para tener una mejor definición de lo que es malta se debe tener en cuenta que es un proceso en el que diferentes cereales son malteados, es decir, son batidos hasta obtener un producto final. La cebada es el principal cereal destinado al malteado en la

producción de cerveza, obteniéndose alrededor de 78 kg de malta por cada 100 kg de cebada, no obstante, actualmente se emplean otros cereales como trigo o avena (Casanova, 2008).

El principal objetivo de la producción de malta a partir de los granos de cebada es desarrollar enzimas que permitan la conversión del almidón presente en el grano en azúcar, cabe destacar que se utiliza cebada porque posee el mayor número de enzimas. Sin embargo, para lograr este fin se debe tener en cuenta que la humedad del grano debe ser inferior al 6 % (Echia, 2018).

1.1.3 Principales subproductos generados en la industria cervecera: Bagazo de malta de cebada.

El bagazo de la malta de cebada es el subproducto que se genera con mayor proporción en la industria cervecera con un aproximado del 85 % del total de todos los demás subproductos generados. (Torrente, 2019), menciona que este residuo posee una humedad de 78 – 83 % y es conocido por tener un contenido de materia seca de 10 % p/p. Además, es rico en proteína y fibra. Para su reutilización se debe someter dicho residuo a un proceso de prensado el cual consiste en disminuir el porcentaje de humedad hasta un 60 % de modo que su conservación se incremente (Jurado, 2018).

1.1.3.1 Composición fisicoquímica del bagazo de malta de cebada

La composición fisicoquímica del bagazo de malta de cebada es distinta para cada variedad de cebada y a su vez, varía de acuerdo con el tiempo de cosecha, trituración y con el tipo de aditivos que son añadidos durante el proceso de elaboración de cerveza (Jurado, 2018).

No obstante, de manera general, el bagazo de malta de cebada es básicamente una capa de semillas-pericarpio-semilla que pueden o no poseer endospermos amiláceos y aleuronas vacías, por lo tanto, los principales componentes del bagazo de malta de

cebada son ricos en polisacáridos tanto celulósicos como no celulósicos, lignina y en algunos casos proteína y lípidos (Mussatto et al., 2006).



Figura 1 Tejidos de las capas fibrosas superficiales de la malta de cebada. Fuente: (Mussatto et al., 2006)

Tabla 1 Composición nutricional del bagazo de malta de cebada

Bagazo de malta de cebada	%
Humedad	5,7
Proteína	18
Fibra	41,28
Almidón	10,1
Azúcares	16,11
Grasa	6,61
Ceniza	3,82

Fuente: (Fărcaș et al., 2014)

1.1.4 Antioxidantes

Los antioxidantes son conocidos por ser sustancias químicas que impiden o retrasan la oxidación de algunas sustancias del cuerpo humano, principalmente de los que pueden provocar diferentes tipos de alteraciones fisiológicas que desencadenan enfermedades degenerativas, además, reducen el efecto del estrés oxidativo mitigando la formación de radicales libres. En muchos casos que han sido documentados se ha identificado que los antioxidantes son potenciadores importantes de una buena salud y su consumo permite controlar y/o prevenir enfermedades degenerativas; principalmente el cáncer (Zamora S, 2007).

1.1.4.1 Polifenoles: Ácido Ferúlico

Los polifenoles tienen como característica fundamental poseer en su estructura funciones hidroxílicas que pueden ser sustituidas a partir de los grupos bencénicos. El grupo más importante de los polifenoles son los flavonoides mismos que se encuentran en gran parte de las plantas compartiendo parte de su esqueleto (Zavaleta et al., 2005). Entre estos compuestos se encuentra el ácido ferúlico (AF), ácido 3-(4-hidroximetoxifenil)-2-propenoico (Figura 2), es un compuesto que no es común encontrarlo en su forma libre ya que normalmente se encuentra esterificado con otros tipos de polisacáridos del esqueleto celular como pectina o celulosa y también se puede encontrar unido a proteínas (Valladares, 2006).

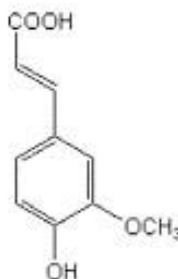


Figura 2 Estructura química de ácido ferúlico. Fuente:(Valladares, 2006)

1.1.5 Microencapsulación

La gran mayoría de los micronutrientes esenciales tienden a degradarse con facilidad por efecto de distintos factores tales como: pH, temperatura, humedad, entre otros, por lo que existen procesos que permiten atrapar dichos componentes en una matriz polimérica por medio de la encapsulación (Calva-Estrada et al., 2019). Según (Desai et al., 2019), el proceso de microencapsulación tiene como característica la creación de partículas en tamaño micro que a través de la unión de una o más matrices poliméricas se genera una barrera física que da paso a la protección de dichos compuestos bioactivos.

Existen distintos métodos de microencapsulación, que son divididos en dos grupos: mecánicos y químicos siendo el método más utilizado el secado por aspersion (Spray Drying), el cual permite microencapsular compuestos de interés como los antioxidantes; su principal beneficio es que es de bajo costo y proporciona microcápsulas un alto rendimiento (Calva-Estrada et al., 2019).

1.1.5.1 Ácido ferúlico microencapsulado como potencial antioxidante

El ácido ferúlico es conocido por ser un antioxidante natural muy potente por lo cual se lo utiliza ampliamente de manera industrial, por ejemplo, en Japón, Estados Unidos y algunos países europeos está aprobado para usarse en alimentos y bebidas. Su actividad antioxidante radica en su capacidad para inhibir los efectos oxidativos de las células humanas (Valladares, 2006); así también, posee actividad despigmentante debido a su poder de inhibición de tirosinasa, una enzima que es la encargada de catalizar el paso de tirosina a melanina (Bucci et al., 2020).

El AF tiene la capacidad de absorber agua por lo que contribuye a la estabilidad mecánica de compuestos como el gluten del pan (Fernández, 2018). Además, forma complejos con polisacáridos que dan paso a una mejor estabilización con la proteína otorgando una mayor afinidad entre los enlaces de hidrogeno en conjunto con las interacciones hidrofóbicas. Así también, es utilizado para prevenir la decoloración de

algunos alimentos lo cual puede ser incluido en la industria cárnica para mantener el color rojo característico de algunos embutidos (Maoka et al., 2008).

1.2 Hipótesis

1.2.1 Hipótesis nula

El porcentaje de ácido ferúlico extraído no dependerá del tipo malta ni de la relación de bagazo de malta de cebada/volumen de disolvente para la cuantificación de su actividad antioxidante en el microencapsulado.

1.2.2 Hipótesis alternativa

El porcentaje de ácido ferúlico extraído dependerá del tipo malta y de la relación de bagazo de malta de cebada/volumen de disolvente para la cuantificación de su actividad antioxidante en el microencapsulado.

1.3 Señalización de variables de la hipótesis

1.3.1 Variable dependiente

Propiedad antioxidante del extracto obtenido a partir de los residuos agroalimentarios de bagazo de malta de cebada.

1.3.2 Variable independiente

Relación de bagazo de malta de cebada /volumen de disolvente y tipos de malta.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Extraer y microencapsular ácido ferúlico como potencial antioxidante a partir de los residuos agroalimentarios de bagazo de malta de cebada.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Determinar las condiciones óptimas de extracción de ácido ferúlico presente en el bagazo de malta de cebada.
- Obtener un extracto microencapsulado de ácido ferúlico mediante secado por aspersión.
- Evaluar la actividad antioxidante del ácido ferúlico microencapsulado.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales, equipos y reactivos

2.1.1 Materiales

En la realización del proyecto de investigación se requirió de los siguientes materiales: magnetos Elicrom, recursos materiales de vidrio: Matraz Erlenmeyer, vasos de precipitación, balones de aforo, probetas graduadas, pipetas, varilla de agitación GLASSCO, embudos, pera de succión, micropipetas HTL Labmate, espátulas, cuchillos, puntas plásticas estériles, fundas con cierre hermético Zyploc, microplaca para espectrofotómetro, además, bagazo de malta de cebada (BSG).

2.1.2 Equipos

Los equipos utilizados fueron los siguientes: Balanza analítica Ohauspionner, deshidratador por convección, placa calefactora CORNING, refractómetro ATAGO, autoclave Hiramaya HICLAVE HV-85, plato de calentamiento VWR, Incubadora VWR, espectrofotómetro infrarrojo FTIR-ATR Perkin Elmer, espectrofotómetro UVVIS FISHER SCIENTIFIC, rotoevaporador IKA HB100, spray dryer Büchi, centrífuga tecnoescala.

2.1.3 Reactivos

Se utilizó ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 96 % p/p para el pre tratamiento ácido e Hidróxido de sodio (NaOH) al 2 % p/p para el tratamiento básico, maltodextrina y goma arábiga (Roig Pharma).

2.2 Métodos

2.2.1 Extracción de ácido ferúlico a partir de los residuos agroindustriales de bagazo de malta de cebada

Una vez recolectado el bagazo de malta de cebada de la cervecería “Vértigo” en la ciudad de Ambato provincia de Tungurahua se realizó un proceso de secado inmediato, llevando la humedad del residuo a 6 % con el fin de prevenir la degradación por microorganismos y a su vez, para estabilizar el residuo. Para la extracción de ácido ferúlico (AF); se tomó en cuenta el tipo de malta (Pilsner, Pale Ale y Munich) y la relación materia vegetal/volumen del disolvente, los análisis se realizaron por triplicado no obstante, previo a la extracción se realizó un pretratamiento ácido con ácido sulfúrico H_2SO_4 al 96 % diluido donde se pesaron 5 g de muestra en una balanza analítica (OhausPioneer) para cada tipo de malta y se tomó el H_2SO_4 en una relación 1:10; las muestras se colocaron en matraces Erlenmeyer marca Pyrex® de 25 ml y se sometieron a un calentamiento en una plancha ThermoScientific durante 10 minutos a una temperatura aproximada de 100 °C este procedimiento incrementó la porosidad y al momento de realizar el tratamiento básico con Hidróxido de sodio NaOH en relación 1:10 y 1:20 a una temperatura de 140 °C durante 90 minutos el material se impregnó provocando la disolución de la lignina y hemicelulosa.

Al finalizar la extracción, las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm y el residuo fue lavado con agua destilada hasta llegar a pH neutro, los extractos obtenidos se colocaron en vasos de precipitación y se midió el volumen obtenido en cada caso, los mismos fueron cubiertos con papel aluminio para evitar algún tipo de reacción del AF y el sobrenadante seco se desechó.

Por otro lado, se realizó un análisis de los extractos utilizando el equipo de infrarrojo IFTR de modo que se determinó la mejor relación de extracción en base al tipo de malta y volumen de disolvente y se utilizó el extracto con mayor cantidad de ácido ferúlico para la siguiente etapa de la investigación.

2.2.2 Microencapsulación de ácido ferúlico en matrices de maltodextrina mediante secado por aspersion

Para la microencapsulación se tomó en cuenta el porcentaje de sólidos totales y se calculó la cantidad de las matrices poliméricas y concentrado (maltodextrina) y agua destilada, se mezcló con agitación constante a 25 °C hasta que tanto la matriz polimérica, el agua y el extracto se mezclaron por completo. Se utilizó el equipo Mini Spray Dryer BÜCHI-B290 a una presión de -50 mbar y temperatura de entrada y salida 120 y 90 °C respectivamente, controlando el flujo de aire y agua. Cuando el proceso concluyó se dejó pasar agua hasta llegar a una temperatura de 100 °C y los flujos tanto de agua como de aire fueron cerrados.

2.2.2 Porcentaje de eficiencia de la extracción de ácido ferúlico

Para el cálculo de la eficiencia de extracción del AF extraído a partir de los residuos agroindustriales de malta de cebada se utilizó la relación de volumen de AF y masa del material vegetal previo a la extracción.

$$\%EE = \frac{v_{AF}}{mV} \times 100 \text{ (Ec. 1)}$$

Donde:

% EE: eficiencia de la extracción en porcentaje

V AF: volumen de ácido ferúlico extraído

MV: Masa de material vegetal

2.2.3 Análisis infrarrojo de los extractos

La eficiencia de microencapsulación se determinó mediante el uso del espectrofotómetro infrarrojo FTIR donde se compararon los espectros antes y después de ser microencapsulados, en dicho análisis se identificaron los espectros del microencapsulado con la matriz polimérica de maltodextrina, la matriz polimérica y el concentrado de AF extraído.

2.2.4 Evaluación de la actividad antioxidante de ácido ferúlico utilizando recopilación bibliográfica

2.2.4.1. Recopilación, evaluación y selección de la bibliografía

El proceso de búsqueda de información se inició en el mes de junio del periodo académico abril – septiembre 2022 de donde se obtuvo la información necesaria para la sustentación de la capacidad antioxidante del ácido ferúlico, las bases de datos que se utilizaron son las siguientes: Science Direct, Springer y otros sitios web dispuestos gratuitamente por la biblioteca digital de la Universidad Técnica de Ambato.

La presente investigación tomó en cuenta diversos aspectos bibliográficos para responder a los procesos interrogativos como: ¿El ácido ferúlico se considera un potencial antioxidante?, ¿Cuáles son las ventajas de utilizarlo como antioxidante?, ¿Existen diferencias entre el ácido ferúlico y otros antioxidantes conocidos?, entre otras.

2.2.5 Palabras clave

Las palabras clave que se utilizaron para la búsqueda de información fueron las siguientes: ácido ferúlico, compuestos fenólicos, microencapsulación, antioxidante, estrés oxidativo, mismas que tienen relación directa con el tema de investigación.

2.2.6 Organización y análisis de la información

Se trabajó con más de 20 fuentes bibliográficas mismas que se recopilaron de las distintas bases de datos mencionadas anteriormente, estas se ordenaron siguiendo las normas establecidas para proyectos de investigación. Al realizar este objetivo en base a revisión bibliográfica se logró evaluar la capacidad antioxidante del ácido ferúlico

microencapsulado, obteniendo un panorama más claro acerca de sus potenciales usos en la industria alimentaria.

2.2.7 Análisis y procesamiento de datos

2.2.7.1 Diseño experimental

Para la correcta selección del procesamiento de datos en el proceso de extracción de ácido ferúlico se aplicó el diseño AxB utilizando tres réplicas para cada tratamiento y se tomó en cuenta la variación cuantitativa de los valores del experimento en cuanto a las variables de respuesta.

Tabla 2 Diseño experimental

Factores AxB	Niveles
A: Tipos de malta	M1: Pilsen
	M2: Pale Ale
	M3: Munich
B: Relación bagazo de malta de cebada/volumen disolvente	B1: 1:10
	B2: 1:20

Tabla 3 Distribución de los tratamientos

	B1 (Pilsen)	B2 (Pale Ale)	B3 (Munich)
A1 (1:10)	a1b1	a1b2	a1b3
A2 (1:20)	a2b1	a2b2	a2b3

Factores: 2 (AxB)

A: Relación bagazo de malta de cebada/volumen disolvente

B: Tipos de malta

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados.

3.1.2. Características fisicoquímicas del bagazo de malta de cebada obtenido del proceso de elaboración de cerveza

Se trabajó con tres tipos de malta: pilsen, munich y pale ale. Estas maltas se procesaron en la cervecería artesanal “Vértigo” y posterior al proceso de cocción se tomaron los parámetros que se muestran a continuación en la tabla 4.

Tabla 4 Características fisicoquímicas de interés del bagazo de malta de cebada obtenido del proceso de elaboración de cerveza

Parámetro	Tipo de malta		
	Pilsen	Pale Ale	Munich
°Brix	19,5	17,1	16,2
H ₀ (%)	87,24	88,32	88,26
H _f (%)	5,431	5,303	5,167

En la tabla 4 se presentan las características físico químicas obtenidas del material vegetal previo al proceso de microencapsulación. Como se observa, la malta tipo Munich posee un menor valor de °Brix en comparación con las maltas tipo Pilsen y Pale Ale. Arriola & la Spina (2017) , establecen que las maltas presentan diferencias en la cantidad de azúcares debido a que durante la transformación de los ingredientes las enzimas responsables pierden su poder y dan paso a la solubilización de los azúcares presentes. Por otro lado, Ruiz (2006), afirma que las maltas más claras en este caso Pilsen y Pale Ale son más dulces debido a la presencia de dextrina.

3.1.3. Extracción de ácido ferúlico a partir de los residuos agroindustriales de bagazo de malta de cebada

En el proceso de extracción de ácido ferúlico a partir de los residuos agroindustriales de bagazo de malta de cebada se tomaron en cuenta dos factores de interés; Factor A (Relación bagazo de malta de cebada/volumen disolvente) y Factor B (tipos de malta) para ello se cuantificó la cantidad de ácido extraído en cada uno de los tratamientos (ver anexo 1).

En los resultados establecidos por Terraza Pira (2013), se expone que una correcta extracción del ácido ferúlico es producto de la hidrólisis alcalina de la pared celular, para ello es ideal el uso de bases fuertes tales como NaOH, sin embargo, en la experimentación se realizó un pre tratamiento ácido con H₂SO₄ al 96 % el cual permitió que los residuos cerosos sean eliminados y a su vez, aumentó la porosidad del material provocando una mejor solubilización de la lignina y otros compuestos presentes en la hemicelulosa al momento de utilizar NaOH en una relación 1:20 (Mussatto et al., 2006).

Mediante el análisis de varianza de los diferentes tratamientos se determinaron las condiciones óptimas de extracción, en la figura 3 se observa que el factor B posee una mayor influencia durante el proceso de extracción de ácido ferúlico con un valor $p < 0,05$ sin embargo la interacción de los factores A y B no presentaron diferencias significativas a un nivel de confianza del 95 % por lo que no existe una influencia directa durante el proceso de extracción.

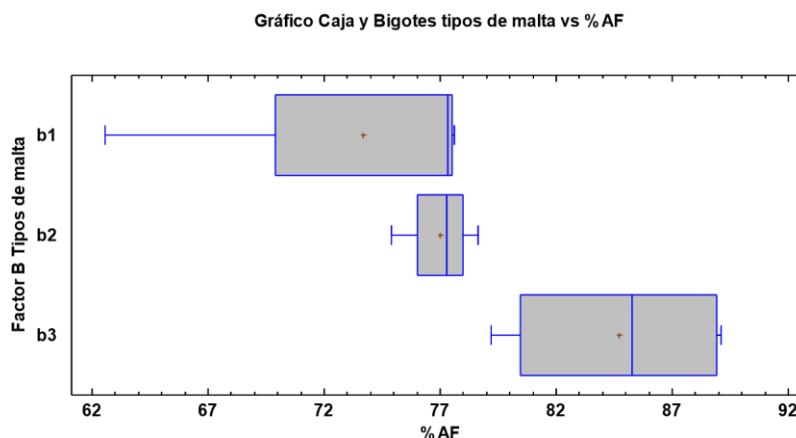


Figura 3 Grafico caja y bigotes tipos de malta vs %AF

Por otro lado, la interacción tanto del factor A como del factor B se observa en la figura 4 en el diagrama de medias donde es notorio que el factor B (tipos de malta) tiene mayor influencia durante la extracción es decir es un parámetro más importante a diferencia de la relación del material vegetal/volumen del disolvente que no presenta diferencias significativas. De acuerdo con Cortéz (2015), el tipo de malta es influyente debido a que este depende del poder diastático (DP) mismo que es la capacidad que posee el grano de cebada para convertir el almidón en azúcares fermentables y al estar presente como residuos en el BSG son los responsables de atrapar mayor cantidad de ácidos fenólicos en las cascarillas.

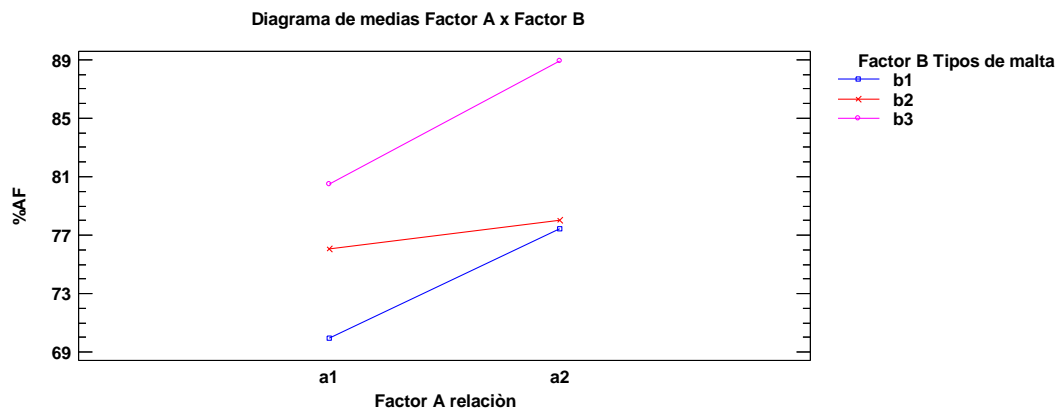


Figura 4 Diagrama de medias de factores A y B

En el diagrama de Pareto estandarizado (figura 5) se observa que las clases se ordenan de acuerdo con los recuentos, poniendo primero la clase con mayor frecuencia de ocurrencia. La clase más alta es b3 con un recuento de 4, el cual representa 33,3333 % del total.

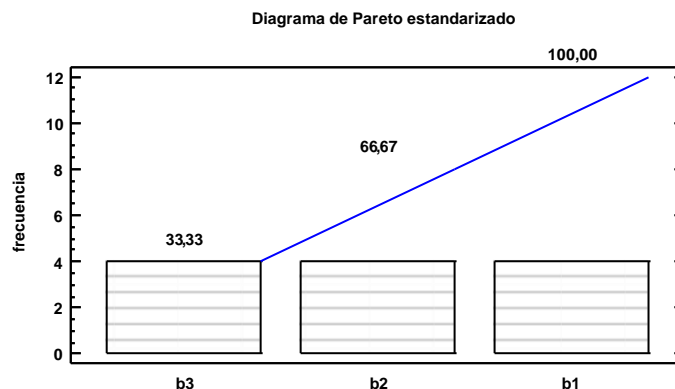


Figura 5 Diagrama de Pareto estandarizado para Factor B tipos de malta

No obstante, haciendo énfasis en el factor A el cual no presentó diferencias significativas se estableció que un parámetro que debe incluirse en la relación material vegetal / volumen del disolvente, es el tiempo ya que con respecto a lo establecido por PILAR ROJAS-Llanes et al. (2014), la extracción de compuestos fenólicos tiene mejores resultados al tener en cuenta el tiempo al que el material vegetal es expuesto debido a que influye directamente en la eficiencia de la extracción.

3.1.4. Porcentaje de eficiencia de la extracción de ácido ferúlico

La extracción de compuestos fenólicos tales como ácido ferúlico utilizando como disolvente bases fuertes como NaOH requieren de la cuantificación porcentual de la eficiencia de la técnica aplicada para la extracción, es por ello que, en los resultados obtenidos se alcanzó un valor máximo de 89,08 % lo que en comparación con lo obtenido por Arancibia, A; Aceves, A; Herrera, R; Alejo, (2015), donde se obtuvo el 97 % de eficiencia se da a entender que las condiciones en las que se realizó la extracción no fueron similares además que el material vegetal fue completamente diferente. Por otro lado, (Pérez-Nájera et al., 2013), extrajeron otros compuestos fenólicos de la cascara de lima consiguiendo un porcentaje de eficiencia de extracción de 87,9 % demostrando que las diferencias que pueden presentarse se dan debido a la pureza del disolvente usado para la extracción. Cabe destacar que en la extracción de AF a partir del bagazo de malta de cebada es notoria la pérdida de una parte de los principios activos presentes debido a que si no se controla la temperatura es probable que un pequeño porcentaje del principio activo se pierda durante el proceso.

Así también, el método de extracción también influye significativamente ya que en comparación con los resultados obtenidos por Fernández (2018), se obtuvo un porcentaje de eficiencia mayor al alcanzado en la experimentación, esto debido a que el proceso de extracción se logró mediante CO₂ supercrítico el cual permite obtener un extracto puro y libre de trazas de los disolventes lo que representa una alta valoración en cuanto a la extracción de este tipo de compuestos fenólicos.

3.1.5. Microencapsulación de ácido ferúlico en matrices de maltodextrina mediante secado por aspersión

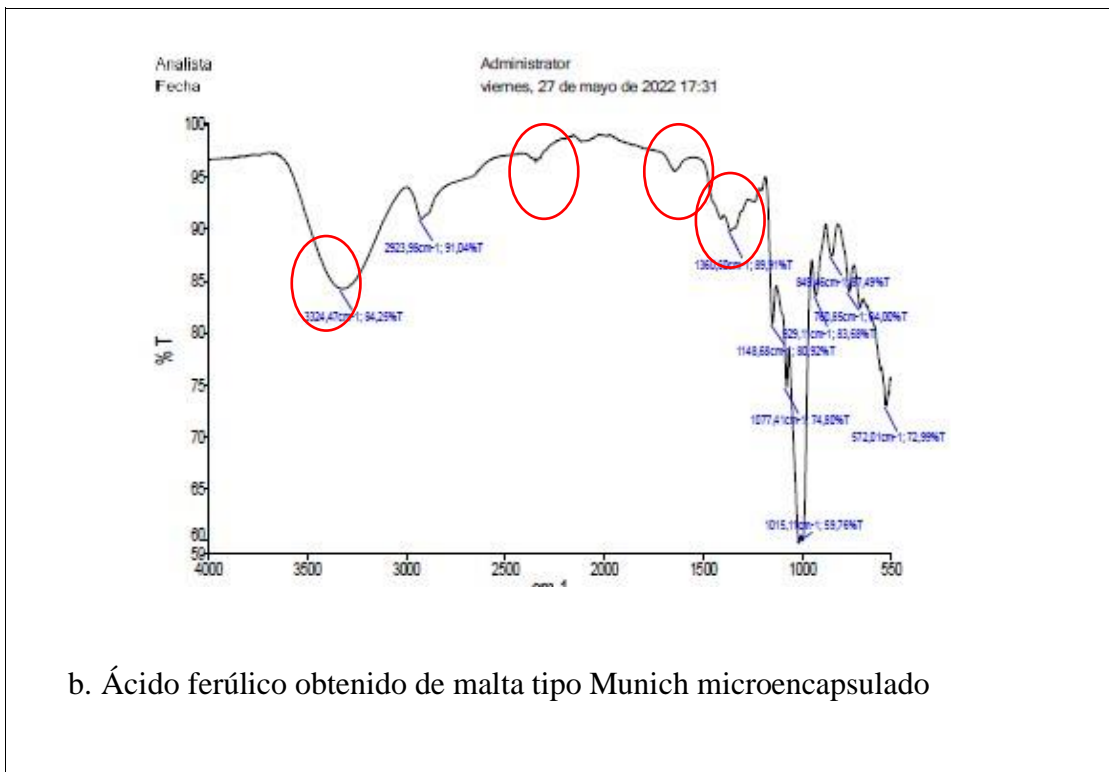
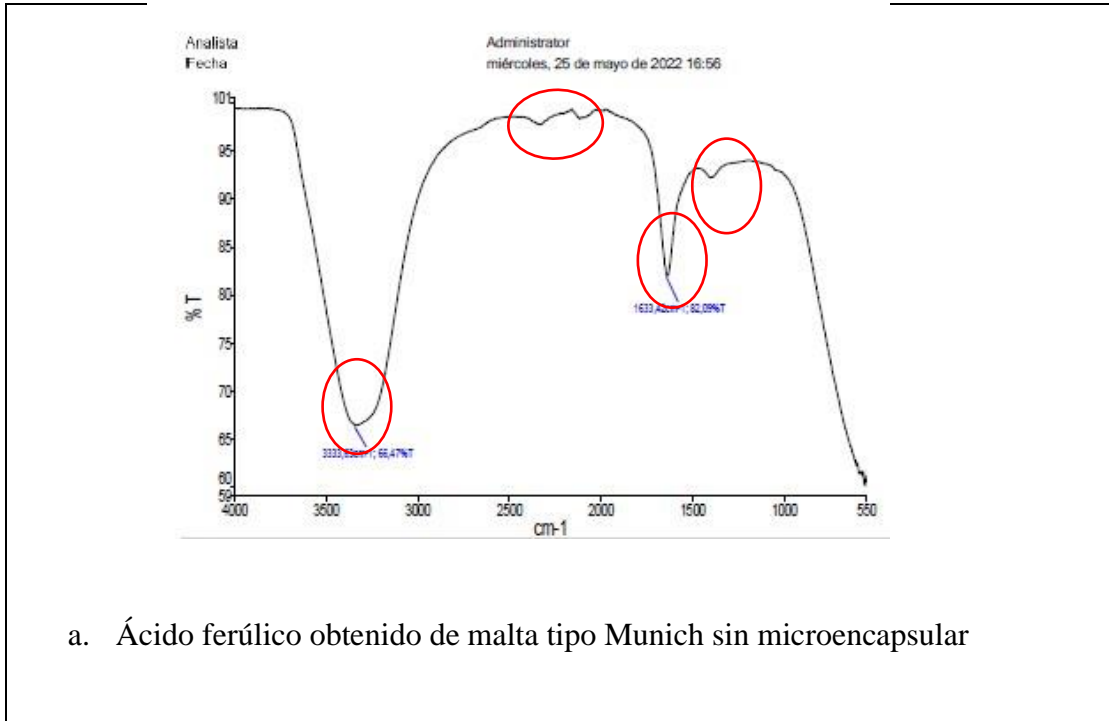
Mediante la aplicación de la técnica de spray drying se obtuvieron microesferas del AF extraído con anterioridad (ver anexo 2); este procedimiento permitió que el extracto sea recubierto mediante el uso de matrices poliméricas de maltodextrina lo cual influye directamente en la eficiencia de microencapsulación.

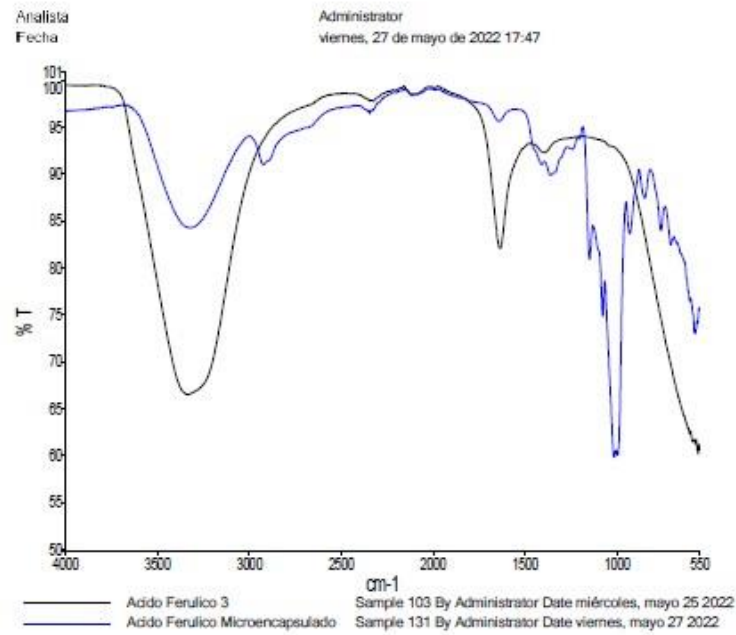
De acuerdo con lo establecido por Arteaga & Arteaga (2016), uno de los microencapsulantes más utilizados a nivel experimental es la maltodextrina que al igual que la goma arábiga presentan buena eficiencia, bajos costos y como agentes encapsulantes son capaces de mantener al compuesto activo microencapsulado protegido de la luz, pH, entre otros factores. En una mezcla de 35 g de maltodextrina y 100 ml de agua destilada se proporcionó una mayor protección al AF logrando obtener una mayor estabilidad del compuesto.

Así mismo, se evidenció que al momento de realizar la técnica de secado por aspersión no existió mayor adherencia demostrando un mayor rendimiento del producto final. En base a ello, Parra Huertas (2010), indica que la maltodextrina se emplea más a menudo dado que permite mejorar el rendimiento en los productos finales obtenidos a partir de la atomización, es así que, en la experimentación se obtuvo un peso final de 33,10 g de AF microencapsulado. No obstante, en los resultados de Arteaga & Arteaga (2016), se expone que porcentajes muy elevados de

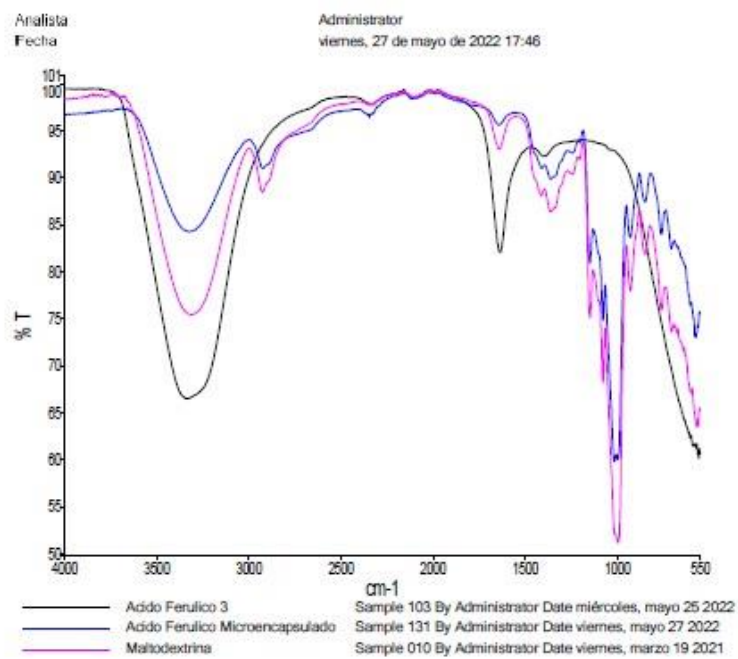
maltodextrina podrían causar aglomeraciones en el atomizador provocando de este modo un bajo rendimiento.

3.1.6. Análisis infrarrojo de los extractos





c. Ácido ferúlico obtenido de malta tipo Munich microencapsulado superpuesto con AF sin microencapsular



d. Ácido ferúlico obtenido de malta tipo Munich microencapsulado superpuesto con AF sin microencapsular y matriz polimérica de maltodextrina

Figura 6 Espectrometría infrarroja del extracto y microencapsulado

En la figura 6a se observa el espectro infrarrojo del AF extraído del bagazo de malta de cebada sin ninguna matriz polimérica que lo recubra donde las bandas más representativas son las del anillo bencénico que poseen un valor dentro del rango 1661 a 1509 cm^{-1} , la banda correspondiente al grupo O-H carboxilo (3324,47 cm^{-1}) y al grupo O-H fenol (1360,60 cm^{-1}) y el enlace metilo (2923,96 cm^{-1}), así pues, en los estudios publicados por Torralba (2014), se reportaron valores de bandas semejantes a los obtenidos en la experimentación, 1661 cm^{-1} para el anillo bencénico, O-H carboxilo y O-H fenol 3431 cm^{-1} y 1265 cm^{-1} respectivamente.

En la figura 6b se observa el extracto microencapsulado y al sobreponerlo en el espectro del AF sin microencapsular (Figura 6c) es notorio que tanto la banda de los anillos bencénicos como los grupos O-H carboxilo y fenol y el enlace metilo desaparecen, es decir, la matriz polimérica recubre dichos grupos funcionales dando paso a la formación de una especie de barrera que protege al AF. Del mismo modo, en la figura 6d se observa la acción de la maltodextrina donde es posible observar cómo recubre el AF otorgándole la acción de protección al mismo, así también, en la figura 6d, al superponer todos los espectros se observó que al someter al microencapsulado en una disolución de agua pierde la barrera de maltodextrina lo que permite constatar que la microencapsulación mediante el secado por aspersion fue efectiva.

3.1.7. Evaluación de la actividad antioxidante de ácido ferúlico utilizando recopilación bibliográfica

Para llevar a cabo la realización de este estudio de revisión bibliográfica se realizó un análisis exhaustivo en distintas bases de datos tales como SciELO, Google Académico, entre otros; especificando tanto en inglés como español palabras claves como: “ácido ferúlico”, “compuestos fenólicos”, “microencapsulación”, “antioxidante”, “estrés oxidativo”, de modo que para evitar posibles errores en la búsqueda se especificó que la actividad antioxidante sea en productos alimenticios, plantas, etc.

3.1.7.1. Técnicas para evaluar la capacidad antioxidante de ácido ferúlico

Dentro de los organismos vivos existen radicales libres que se forman como un proceso natural para mantener la homeostasis Huet (2017), según lo establecido por García (2011), para lograr un equilibrio en la formación de dichos radicales es necesario involucrar en el proceso antioxidantes capaces de mantener en ajuste todos los procesos internos del ser vivo, por ende, para determinar esta capacidad que poseen compuestos extraídos tales como el ácido ferúlico es necesario someter al extracto a un estrés oxidativo que permita evaluar su capacidad de defensa mediante la aplicación de métodos tanto de carácter “*in vitro*” como “*in vivo*” (Gan et al., 2017).

Debido al sinnúmero de beneficios que ofrecen los antioxidantes se han estudiado diversos métodos que permiten determinar la actividad antioxidante de los extractos de diversos tipos de residuos, alimentos, entre otros (García, 2011). Para ello, se emplean una combinación de varias técnicas dado que la acción de los antioxidantes es distinta de acuerdo al extracto con el que se está trabajando (Muñoz Jáuregui et al., 2007). En el caso del ácido ferúlico, se conoce que este es capaz de suprimir la generación de los radicales libres que dan inicio al daño por estrés oxidativo, sin embargo, Hernández (2013), establece que de acuerdo con el tipo de material vegetal del que es extraído el compuesto activo este puede presentar otras características antioxidantes como la supresión de radicales libres, la formación de complejos o a su vez la captura de los radicales encargados del estrés oxidativo.

3.1.7.2. Evaluación de la actividad antioxidante

3.1.7.2.1. Técnicas *in vitro*

Existen diversas técnicas para determinar la actividad antioxidante del AF tales como FRAP, DPPH, ORAC, entre otras, las cuales deben ser efectuadas con precaución dado que de acuerdo con Bonilla (2014), pueden existir diversos cambios en la metodología como diferencias en las temperaturas, manipulación o variedad del extracto, tiempos de exposición, entre otros, en base a los intereses del autor de cada ensayo, no obstante,

los resultados pueden variar en múltiples formas por lo cual en algunos casos su comparación tiende a dificultarse (Muñoz Jáuregui et al., 2007).

3.1.7.2.2. Reacciones SET y HAT

Existen diversas reacciones para evaluar la capacidad antioxidante de extractos de origen alimentario como el AF, entre los compuestos que pueden reaccionar de forma directa con los radicales libres se encuentran los polifenoles que se encargan de detener el proceso de oxidación mediante dos mecanismos, ya sea por transferencia de hidrógeno o de electrones.

A diferencia de las reacciones HAT, las SET dependen directamente del disolvente, no obstante, ambas dependen del pH y a su vez son sensibles a ácidos como el úrico y el ascórbico. Por otro lado, las reacciones de tipo HAT se determinan en base a su entalpia, Huet (2017), establece que la disociación ejercida por la entalpia de los compuestos da paso a la abstracción de los átomos de interés (H), dando paso a la formación de un radical mucho más estable.

Asimismo, las reacciones SET poseen características, pero son poco similares a las HAT, ya que de acuerdo a lo establecido por Latorre (2016), estas dependen de únicamente del potencial de ionización.

3.1.7.2.2.1. Método FRAP

Esta reacción es de tipo SET, la cual tiene como objeto reducir el complejo de tripidiltriaza férrica hasta convertirlo en un complejo ferroso a través del antioxidante (AF) en un medio ácido. Es importante destacar que la reacción produce un cambio de color el cual es medido durante 4 minutos a 595 nm de absorbancia, sin embargo, se propone que la medición sea hasta alcanzar los 30 minutos ya que esto permitirá que todos los compuestos reaccionen (Benítez-Estrada et al., 2020).

3.1.7.2.2.2.Método TEAC/ABTS

Esta reacción es de tipo SET y se fundamenta en capturar los radicales catiónicos expuestos por acción del ácido ferúlico provocando un descenso en la absorbancia a 658 nm, en este caso se compara el descenso con la curva de Trolox al mismo tiempo que se realiza el análisis en el antioxidante. Sin embargo, en algunos casos el AF puede reaccionar con los reactivos impidiendo la formación de los radicales y por ende el análisis de la capacidad antioxidante se ve afectado para lo cual se ha propuesto generar los radicales previo a la adición del AF (Wood et al., 2006).

3.1.7.2.2.3.Método DMPD

Este tipo de ensayo utiliza el mecanismo SET y su metodología es similar a la utilizada en el método ABTS no obstante, en este caso el radical es generado en presencia de una solución que tenga como característica la oxidación del cloruro férrico presentando una absorbancia máxima a 505 nm. El AF es capaz de reaccionar con los compuestos de la reacción provocando un descenso en los valores de absorbancia mismos que son comparados en base a la curva de calibración de Trolox (Jean Mayer, 1999).

3.1.7.2.2.4. Método DPPH

El radical que reacciona en este método es de carácter orgánico y al igual que los otros métodos expuestos anteriormente, la presencia del AF provoca un descenso en la absorbancia y aunque el mecanismo se basa en reacciones de tipo SET, también trabaja simultáneamente con reacciones HAT. Cabe destacar que el AF tendrá una mejor acción a concentraciones menores cuando la eficiencia del extracto sea mayor (García Ruiz, 2021).

3.1.7.2.3. Técnicas *in vivo*

En la evaluación de la actividad antioxidante de AF mediante técnicas *in vivo* se encontró que la mayor parte de autores trabajan utilizando microorganismos que son reconocidos por presentar distintos mecanismos de defensa al estar sometidos a estrés

oxidativo (Wood et al., 2006), tal es el caso de Martins et al. (2016), quienes en sus estudios demostró que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es de las más estudiadas debido a su capacidad de defensa en situaciones de estrés.

Para evaluar correctamente la capacidad antioxidante del ácido ferúlico, (Cirillo & Lemma, 2012), propone que al ser un polifenol este puede ser utilizado como control positivo comparándolo con la acción que otorga el ácido ascórbico mismo que dentro de los análisis de laboratorio es usado como control negativo y el microorganismo sin tratar es el blanco (Romero et al., 2015).

Partiendo de lo mencionado anteriormente, las antocianinas estudiadas en el proyecto de Encina (2008), se expusieron a diferentes concentraciones del microencapsulado obteniéndose una curva de crecimiento donde se indicó la capacidad pro oxidativa y antioxidante del extracto lo cual al tratarse de un compuesto fenólico al igual que el AF puede ser estimado del mismo modo.

De la misma manera, en lo establecido por Folch et al. (2004), se establece que la razón de crecimiento del microorganismo se calcula mediante la división de la absorbancia de levadura tratada con respecto al blanco (crecimiento normal sin tratamiento), logrando un resultado a las 24 horas de iniciar el ensayo. Manrique et al., (2015), indicó que, en su experiencia con este tipo de técnicas, los microorganismos al estar sometidos a mayores concentraciones de estrés mantienen un crecimiento menor por lo que al adicionar AF como antioxidante se logró una pendiente negativa inicial lo que representa el declive del microorganismo, sin embargo, es posible recuperarlo para que su crecimiento celular se logre con normalidad.

Por lo tanto, cabe destacar que, en base a dichos estudios en polifenoles, el AF ayuda al microorganismo posterior a las 6 horas de estudio logrando de este modo demostrar que su capacidad antioxidante puede ser estudiada a mayor escala (Folch et al., 2004).

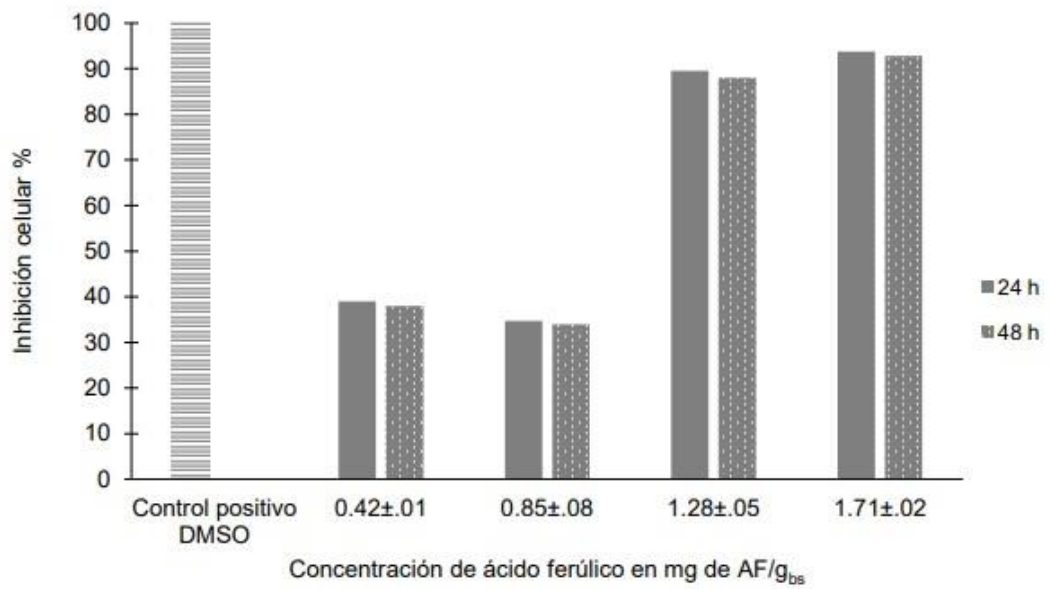


Figura 7 Actividad antioxidante de ácido ferúlico obtenido de nejayote purificado
Fuente:(Chavarria, 2007)

Como se observa en la figura 7, el ácido ferúlico presenta una correcta liberación de radicales que limitan el estrés oxidativo de las células en 24 horas de acción, es por ello que a medida que transcurre el tiempo este sigue transformándose de modo que la inhibición celular se logra con éxito (Chavarria, 2007).

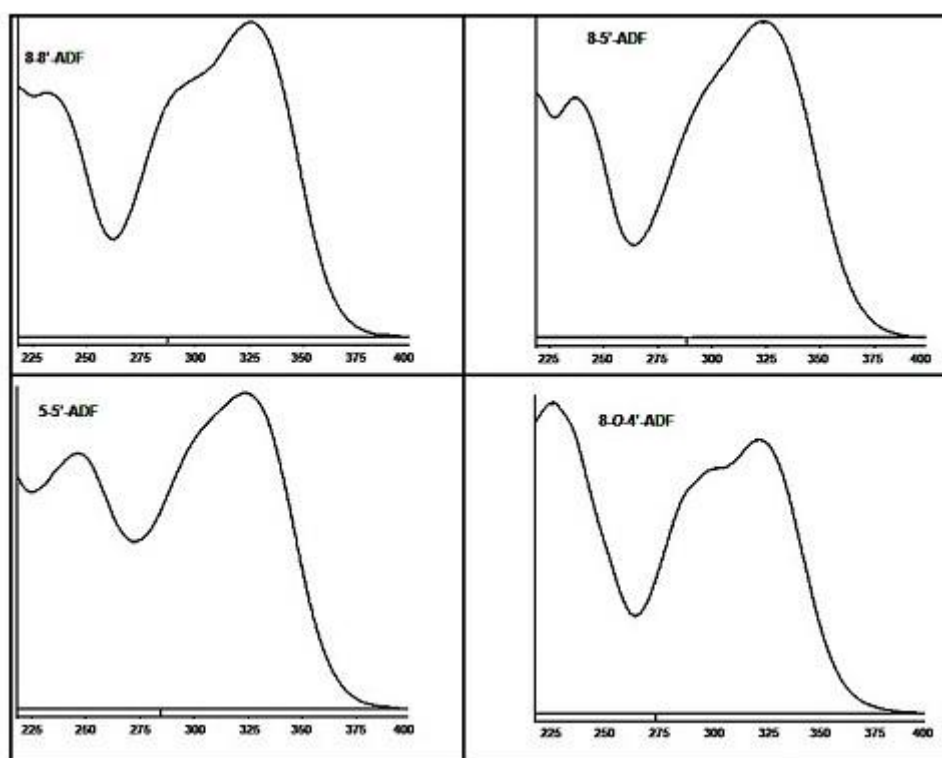


Figura 8 Espectros obtenidos de ácido ferúlico

Fuente: (Urias et al., 2016)

Por otro lado, en los estudios realizados por (Urias et al., 2016), el ácido ferúlico presentó valores de actividad antioxidante de 86,09 y 31,71% en muestras de maíz y trigo respectivamente en el método DPPH no obstante en el método ORAC se estableció un valor total de 105,56 umol en la muestra de maíz y 26,12 umol en el trigo demostrando la diferencia en los espectros entre ambos métodos (figura 8).

3.2 Verificación de hipótesis

Se analizó los datos obtenidos en la actividad antioxidante de las muestras microencapsuladas de ácido ferúlico obtenidas del residuo agroindustrial del bagazo de malta de cebada y para un nivel de confianza del 95 %:

- Se rechaza la hipótesis nula para el factor B tipos de malta, por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa que demuestra que el porcentaje de ácido ferúlico extraído

depende del tipo malta para la cuantificación de su actividad antioxidante en el microencapsulado.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Las mejores condiciones para la extracción de ácido ferúlico obtenido a partir de los residuos agroindustrias de bagazo de malta de cebada se lograron posterior a la aplicación de un pre tratamiento ácido con H₂SO₄ al 96 % diluido utilizando el tipo de malta Munich 1:20 material vegetal / volumen de disolvente (NaOH) a temperatura constante de 120 °C durante 90 minutos.
- Se microencapsuló el ácido ferúlico extraído mediante la técnica de secado por aspersión con una matriz polimérica de maltodextrina en una relación de 35 g de agente encapsulante en 100 ml de agua destilada alcanzado una buena eficiencia de microencapsulación corroborando los resultados en base a un análisis de espectrofotometría infrarroja FT/IR en donde se evidenció la presencia del ácido ferúlico y a su vez como este es recubierto en la matriz polimérica perdiendo sus principales bandas al disolverse en agua.
- Se evaluó que, en cualquier caso, los ensayos establecidos para la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto microencapsulado de ácido ferúlico deben complementarse con técnicas tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” ya que al utilizar diferentes concentraciones del extracto es posible que se presente un efecto prooxidante dando como resultado un desbalance en el equilibrio entre la capacidad antioxidante y prooxidante del AF.

4.2 Recomendaciones

- Estudiar la extracción de ácido ferúlico mediante el uso de BSG combinado con diferentes tipos maltas.
- Realizar estudios posteriores al microencapsulado de modo que se lo pueda caracterizar como aditivo alimentario.

C. MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Arancibia, A; Aceves, A; Herrera, R; Alejo, M. (2015). *WO2016085317A1.pdf* (Patent No. PCT/MX2014/000186).
- Arriola, A., & la Spina, B. (2017). *PRODUCCIÓN DE MALTA CERVECERA*.
https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/9257/arriola-la-spina-producinde-malta-cervecera-2017.pdf
- Arteaga, A., & Arteaga, H. (2016). Optimization of the antioxidant capacity, anthocyanins and rehydration in powder of cranberry (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulated with mixtures of hydrocolloids. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 191–200. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.05>
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., AlcántarRodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., Quintero-Gutiérrez, A. G., Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., PugaDíaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–9. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2020.0.244>
- Bonilla, L. (2014). *Efecto de tratamientos antioxidantes en dos medios de cultivo en el establecimiento in vitro de Fragaria x ananassa a partir de la siembra apolar de láminas foliares*.
<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/4e9663a8-0913-482f9fa2-6def9a75a5b5/content>
- Bucci, L., Santos, M., Montanari, J., & Zaritzky, N. (2020). Encapsulación en liposomas de ácido férulico obtenido de residuos de bagazo cervecero para su utilización en tratamientos dérmicos. *CIDCA*.
- Calva-Estrada, S. J., Lugo-Cervantes, E., & Jiménez-Fernández, M. (2019).

- Microencapsulation of cocoa liquor nanoemulsion with whey protein using spray drying to protection of volatile compounds and antioxidant capacity. *Journal of Microencapsulation*, 36(5), 447–458.
<https://doi.org/10.1080/02652048.2019.1638463>
- Casanova, F. (2008). Vista de EVALUACIÓN DEL POLVILLO DE MALTA DE CEBADA, *Hordeum vulgare*, COMO INSUMO ALIMENTICIO PARA GAMITANA (*Colossoma macropomum*). *Foua Amazónica*, 17(1–2), 15–22.
- Castañeda López, C. C. C., Moreno, J. M., Colinas León, T. B., & Livera Hernández, A. (2004). CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE CEBADA Y TRIGO GROWTH AND DEVELOPMENT OF BARLEY AND WHEAT. *Artículo Científico Rev. Fitotec. Mex*, 27(2), 167–175.
- Chavarria, E. (2007). *Dímeros de ácido ferúlico de nejayoye de maíz: Evaluación de la actividad antioxidante de extractos enriquecidos* [Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/pd2008/0626676/0626676.pdf>
- Cirillo, G., & Lemma, F. (2012). *Antioxidant Polymers : Synthesis, Properties, and Applications*. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/uta-ebooks/reader.action?docID=918280&query=antioxidant+activity>
- Cortéz, D. (2015, October 29). *¿El secreto está en la malta? | Cervezomicón*. Cervezomicón - El Secreto de La Malta. <https://cervezomicon.com/2015/10/29/el-secreto-esta-en-la-malta/>
- Desai, N. M., Haware, D. J., Basavaraj, K., & Murthy, P. S. (2019). Microencapsulation of antioxidant phenolic compounds from green coffee. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(4), 400–406.
<https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1575858>
- Echia, D. (2018). *ELABORACIÓN DE CERVEZA UTILIZANDO UNA MEZCLA DE MALTA DE CEBADA Y PAPA NATIVA AMARILLA TUMBAY*r.
- Encina, C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Soc. Quim. Perú*, 74(2). http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004

- Fărcaș, A., Tofană, M., Socaci, S., Mudura, E., Scrob, S., Salanță, L., & Mureșan, V. (2014). *Brewers' spent grain-A new potential ingredient for functional foods*. *20(2)*, 137–141.
- Fernández, S. (2018). *ESTUDIO DE LA ENCAPSULACIÓN Y APLICACIÓN EN PANIFICACIÓN DE EXTRACTOS SUPERCRÍTICOS DE SALVADO DE TRIGO*.
- Folch, J., Garay, A., Lledías, F., & Covarrubias, A. (2004). La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Latinoamericana*, *46(1–2)*.
https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2004/mi04-1_2d.pdf
- Gan, R. Y., Shah, N. P., Wang, M. F., Lui, W. Y., & Corke, H. (2017). *Lactobacillus plantarum* WCFS1 Fermentation Differentially Affects Antioxidant Capacity and Polyphenol Content in Mung bean (*Vigna radiata*) and Soya Bean (*Glycine max*) Milks. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41(1)*.
<https://doi.org/10.1111/JFPP.12944>
- García, A. (2011). *Evaluación in vitro/in vivo de propiedades antioxidantes de clones promisorios de papa criolla (Solanum phureja)*.
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/11267/andreaelisagarciaaramirez.2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- García Ruiz, C. (2021). *Métodos in vitro para caracterizar la biodisponibilidad de componentes fenólicos en especies vegetales comestibles*.
https://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/14572/1/TFGQ_Garcia%20Ruiz%2c%20Cristian.pdf
- Hernández, R. (2013). *EVALUACIÓN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA DE ÁCIDO FERÚLICO Y FERULATO DE ETILO EN CARNE FRESCA DE RES*.
<https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/332/1/HERNANDEZ-AMEZQUITA-R13.pdf>
- Huet, C. (2017). *Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en muestras biológicas*.

<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CRISTINA%20HUET%20BRE%20C3%91A.pdf>

Jean Mayer, U. (1999). *Forum: Oxidative Stress Status IN VIVO TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY: COMPARISON OF DIFFERENT ANALYTICAL METHODS* 1 RONALD L. PRIOR and GUOHUA CAO.

Jurado, S. (2018). *APROVECHAMIENTO DEL BAGAZO DE MALTA DE CEBADA COMO INSUMO EN LA ELABORACIÓN DE UNA BARRA DE CEREALES ALTA EN FIBRA.*

Latorre, M. (2016). POLIFENOLES DE LA UVA. *Al-Qantara*, 24(2).
<http://www.journals.elsevier.com/trends-in->

Manrique, P., Jurado, B., Llica, E., & Calixto, M. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de Juglans Neotropica Diels (nogal peruano). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 81(3).

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2015000300010

Maoka, T., Tanimoto, F., Sano, M., Tsurukawa, K., Tsuno, T., Tsujiwaki, S., Ishimaru, K., & Takii, K. (2008). Effects of dietary supplementation of ferulic acid and γoryzanol on integument color and suppression of oxidative stress in cultured red sea bream, *Pagrus major*. *Journal of Oleo Science*, 57(2), 133–137.
<https://doi.org/10.5650/jos.57.133>

Martins, N., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 48, pp. 1–12). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.008>

Muñoz Jáuregui, A., Ramos-Escudero, D., Alvarado-Ortiz, C., & Castañeda Castañeda, B. (2007). EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN RECURSOS VEGETALES PROMISORIOS 1 1 EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY AND CONTENT OF PHENOLICS COMPOUNDS OF VEGETABLE PROMISSORY RESOURCES. *Rev Soc Quím Perú*, 73, 142–149.

- Mussatto, S. I., Dragone, G., & Roberto, I. C. (2006). Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>
- Parra Huertas, R. A. (2010). Revisión de microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 63(2), 5669–5684.
- Pérez-Nájera, V., Lugo-Cervantes, E., Gutiérrez-Lomelí, M., & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2013). EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA CÁSCARA DE LIMA (*Citrus limetta* Risso) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE. *BIOtecnia*, 15(3), 18. <https://doi.org/10.18633/bt.v15i3.153>
- PILAR ROJAS-Llanes, J., René MARTÍNEZ, J., & Stashenko, E. E. (2014). CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE MORA (*Rubus glaucus* Benth) OBTENIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF BLACKBERRY (*Rubus glaucus* Benth) EXTRACTS OBTAINED UNDER DIFFERENT CONDITIONS. *Redalyc*, 21(3), 218–227.
- Romero, A. B. da R., e Martins, M. D. C. D. C., Nunes, P. H. M., Ferreira, N. R. T., Brito, A. K. da S., da Cunha, P. F. M., de Lima, A., de Assis, R. C., & Araújo, E. M. (2015). La actividad antioxidante in vitro e in vivo de la fruta burití (*Mauritia Flexuosa* L.F). *Nutricion Hospitalaria*, 32(5), 2153–2161. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.5.9603>
- Ruiz, Y. (2006). *Producción de malta cervecera*. <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10962/Elaboracion%20y%20evaluacion%20maltas%20cerveceras.pdf?sequence=1>
- Terraza Pira, M. F. (2013). *Recuperación del ácido ferúlico del licor de cocimiento (Nejayote) del proceso tradicional de nixtamalización de maíz blanco*. 1–75.
- Torralba, A. (2014). *Complejos De Inclusión Ácido Ferúlico*.
- Torrente, S. (2019). Aprovechamiento de los subproductos generados en la industria cervecera. *Facultad de Farmacia, Universidad Computense*, 1–20.

Urias, V., Basilio, J., Muy, D., & Niño, G. (2016, January). Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. *Ácidos Fenólicos Con Actividad Antioxidante En Salvado de Maíz y Salvado de Trigo*.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282016000100005

Valladares, A. G. (2006). *RECUPERACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO DE SUBPRODUCTOS Y DESECHOS DE LA INDUSTRIA DE LA TORTILLA* .

Wood, L. G., Gibson, P. G., & Garg, M. L. (2006). A review of the methodology for assessing in vivo antioxidant capacity. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 86, Issue 13, pp. 2057–2066). <https://doi.org/10.1002/jsfa.2604>

Zamora S, J. D. (2007). ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 17–26.
<https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>

Zavaleta, J., Muñoz, A. M., Blanco, T., Alvaro-Ortiz, C., & Loja, B. (2005). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Horizonte Médico*, 5(2).

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza para el porcentaje de ácido ferúlico obtenido

Análisis de Varianza para %AF - Suma de Cuadrados Tipo III

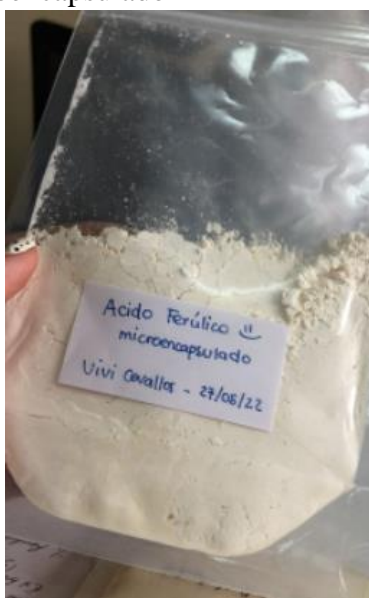
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Factor A relación	106,565	1	106,565	5,48	0,0578

B:Factor B Tipos de malta	254,54	2	127,27	6,54	0,0311
INTERACCIONES					
AB	24,3506	2	12,1753	0,63	0,5664
RESIDUOS	116,731	6	19,4551		
TOTAL (CORREGIDO)	502,186	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre %AF con un 95,0% de nivel de confianza.

Anexo 2. Ácido ferúlico microencapsulado



Anexo 3. Datos obtenidos para el diseño experimental AxB

Repeticiones	Pilsen		Pale Ale		Munich	
	1:10	1:20	1:10	1:20	1:10	1:20
1	62,56	77,26	74,89	77,36	81,78	89,08
2	77,38	77,62	77,17	78,64	79,18	88,76

Relación material vegetal volumen disolvente / tipo de malta	R1	R2
a1b1	62,56	77,38
a2b1	77,26	77,62
a1b2	74,89	77,17
a2b2	77,36	78,64
a1b3	81,78	79,18
a2b3	89,08	88,76

Anexo 4. Registro de datos obtenidos para las réplicas 1 y 2

material vegetal	Peso (g) R1	Peso (g) R2
BSG1	8,011	8
BSG2	8,014	8,001
BSG3	8,013	8,011
BSG4	8,001	8,012
BSG5	8,001	8
BSG6	8,001	8

BSG: Bagazo de malta de cebada

v AF extraído	volumen (mL) R1	Volumen (mL) R2
a1b1	5,012	6,19
a2b1	6,192	6,21
a1b2	6,001	6,112
a2b2	6,19	6,301
a1b3	6,544	6,334
a2b3	7,18	7,101

Anexo 5. Cálculos para el porcentaje de eficiencia de la extracción de ácido ferúlico

$$\%EE = \frac{v_{AF}}{mV} \times 100 \text{ (Ec, 1)}$$

Calculo modelo

$$\%EE = \frac{8,011}{5,012} \times 100$$

$$\%EE = 62,56$$

Factor A relación material vegetal/ volumen disolvente	Factor B Tipos de Malta	Réplicas	%AF
a1 (1:10)	b1 Pilsen	1	62,56
a1(1:10)	b1 Pilsen	2	77,38
a2 (1:20)	b1 Pilsen	1	77,26
a2 (1:20)	b1 Pilsen	2	77,62
a1 (1:10)	b2 PaleAle	1	74,89
a1 (1:10)	b2 PaleAle	2	77,17
a2 (1:20)	b2 PaleAle	1	77,36
a2 (1:20)	b2 PaleAle	2	78,64
a1 (1:10)	b3 Munich	1	81,78
a1 (1:10)	b3 Munich	2	79,18
a2 (1:20)	b3 Munich	1	89,08
a2(1:20)	b3 Munich	2	88,76

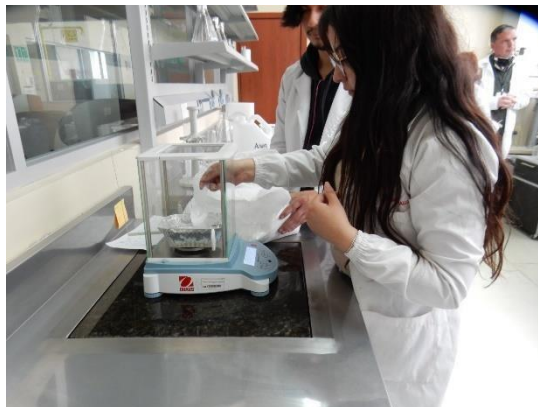
Anexo 6. Microencapsulación de AF



Anexo 7. Análisis Infrarrojo de las muestras



Anexo 8. Preparación de las matrices de maltodextrina



Anexo 9. Pre tratamiento ácido de las maltas (Pilsen, munich y Pale Ale)



Anexo 10. Medición de pH



Anexo 11. Lavado de las muestras (Hasta obtener pH neutro)



Anexo 12. Muestras centrifugadas

