



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



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

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

---

**Tema:** Recuperación de antocianinas a partir de los residuos agroindustriales de la mora de castilla.

---

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

**Autora:** Diana Michelle Llerena Toasa

**Tutor:** Dr. Orestes Darío López Hernández, PhD

**Ambato – Ecuador**

**Febrero - 2024**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Dr. Orestes Darío López Hernández, PhD

### **CERTIFICA:**

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación del Informe Final del Trabajo de Titulación, opción 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, 12 de enero del 2024

.....

Dr. Orestes Darío López Hernández, PhD

C.I. 1754784864

**TUTOR**

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Diana Michelle Llerena Toasa manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son absolutamente originales, como auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Diana Michelle Llerena Toasa

C.I. 1804416061

**AUTORA**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso del Informe Final del Trabajo de Titulación, o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

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



Diana Michelle Llerena Toasa

C.I. 1804416061

**AUTORA**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción 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:

.....

Presidente del tribunal

.....

Dr. William Ricardo Calero Cáceres, PhD

1714348859

.....

Dr. Mario Daniel García Solís, PhD

1103605471

Ambato, 7 de febrero del 2024

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por haberme dado la vida que tengo, llena de retos, pero también llena de personas increíbles, que me ayudaron a crecer en cada etapa de mi vida universitaria.

A mis papás, Lidia y Alfonso, gracias por el sacrificio diario que han realizado, por darme lo mejor y ser el apoyo incondicional en cada paso que he dado. Seguiré luchando por nuestra felicidad y superación.

A mis hermanos Víctor y Estefanía, gracias por enseñarme con el ejemplo y alegrarme la vida. También a mi hijo Dominick, gracias por existir y por enseñarme que la vida es maravillosa, a pesar de las complicaciones.

A mis casi hermanas Eliana y Griselda, gracias por compartir esta etapa de la vida universitaria y por formar una parte importante de mí. Además de ser el apoyo constante en todas esas noches de desvelo, entre llantos y risas, pero unidas, todo por un mismo fin, la superación y felicidad mutua.

A mi esposo Nelson, por ser un hombre ejemplar y maravilloso, perseverante y luchador, que poco a poco se ganó mi corazón, gracias por ayudarme en momentos de dificultad, por hacer mis días distintos y mejores, a pesar de los desafíos que se presenten.

A todos los docentes y compañeros que he conocido en mi ciclo universitario, gracias por la ayuda incondicional y por el conocimiento compartido, que permitió que crezca y me desenvuelva hasta el día de hoy.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	iii
DERECHOS DE AUTOR .....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN EJECUTIVO .....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO .....	1
1.1. Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1. Mora de Castilla .....	1
1.1.2. Residuos de la Mora de Castilla.....	2
1.1.3. Antocianinas.....	3
1.1.4. Estrés oxidativo.....	4
1.1.5. Beneficios de las antocianinas .....	5
1.1.6. Microencapsulación .....	5

1.1.7. Método de extracción de antocianinas y evaluación de la actividad antioxidante .....	6
1.2. Objetivos .....	7
1.2.1. Objetivo General .....	7
1.2.2. Objetivos Específicos.....	7
1.3. Hipótesis.....	7
1.3.1. Hipótesis nula.....	7
1.3.2. Hipótesis alternativa.....	7
1.4. Señalamiento de las variables de hipótesis.....	8
1.4.1. Variables dependientes.....	8
1.4.2. Variables independientes .....	8
<b>CAPÍTULO II.- MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>9</b>
2.1. Materiales.....	9
2.1.1. Materia Prima.....	9
2.1.2. Reactivos .....	9
2.1.3. Materiales e Insumos.....	9
2.1.4. Equipos.....	10
2.2. Métodos.....	11
2.2.1. Obtención de materia prima .....	11
2.2.2. Acondicionamiento de los residuos de la Mora de Castilla .....	11
2.2.3. Extracción de antocianinas de la Mora de Castilla .....	11

2.2.4. Determinación de antocianinas .....	12
2.2.5. Determinación de sólidos totales del extracto de Mora de Castilla .....	13
2.2.6. Análisis estadístico de los datos .....	14
2.2.7. Elaboración de la disolución para el secado .....	15
2.2.8. Microencapsulación de antocianinas.....	15
2.2.9. Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> .....	16
<b>CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>17</b>
3.1. Análisis y discusión de los resultados .....	17
3.1.1. Tratamientos aplicados para la extracción de antocianinas .....	17
3.1.2. Diseño experimental.....	19
3.1.3 Obtención del concentrado de antocianinas .....	22
3.1.4 Sólidos totales del concentrado de antocianinas .....	22
3.1.5 Microencapsulación de las antocianinas .....	23
3.1.6. Análisis mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR).....	24
3.1.7. Evaluación de la actividad antioxidante.....	26
3.2. Verificación de hipótesis.....	27
<b>CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>28</b>
4.1. Conclusiones .....	28
4.2. Recomendaciones.....	29
<b>MATERIALES DE REFERENCIA .....</b>	<b>30</b>
Referencias bibliográficas.....	30

Anexos .....	37
--------------	----

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diseño factorial $2^2$ con dos niveles por cada factor. ....	12
<b>Tabla 2.</b> Estructura del diseño experimental $2^2$ .....	12
<b>Tabla 3.</b> Datos obtenidos de las pruebas aplicadas a los tratamientos. ....	17
<b>Tabla 4.</b> Análisis de Varianza para Concentración de antocianinas vs Base seca. ...	19
<b>Tabla 5.</b> Resultados obtenidos de la eficiencia de microencapsulación de las antocianinas de los residuos de mora de castilla.....	23
<b>Tabla 6.</b> Resultados de la actividad antioxidante de antocianinas. ....	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura general de las antocianinas.....	3
<b>Figura 2.</b> Diagrama de Pareto de la influencia de los factores en la extracción de antocianinas a partir de los residuos de la mora de castilla.....	20
<b>Figura 3.</b> Diagrama de superficie de respuesta de los efectos principales en la extracción de antocianinas de la mora. ....	21
<b>Figura 4.</b> Diagrama de interacción para concentración de antocianinas en base seca..	22
<b>Figura 5.</b> Espectros infrarrojos FT-IR. A) Concentrado de antocianinas, B) microencapsulado y C) polímero maltodextrina. ....	25

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Gráfica del barrido espectral de la disolución de antocianinas usando etanol como blanco. ....	37
<b>Anexo 2.</b> Datos obtenidos en el barrido espectral de una disolución de antocianinas usando etanol como blanco, a una longitud de onda de 400 a 600 nm .....	38
<b>Anexo 3.</b> Residuos agroindustriales de la mora de castilla.....	39
<b>Anexo 4.</b> Acondicionamiento de los residuos de la mora de castilla en el deshidratador por convección. ....	39
<b>Anexo 5.</b> Trituración de los residuos de la mora de castilla. ....	39
<b>Anexo 6.</b> Preparación de la solución alcohólica – ácida (etanol 96% más ácido cítrico).....	40
<b>Anexo 7.</b> Proceso de extracción de antocianinas a partir de residuos de la mora de castilla. ....	40
<b>Anexo 8.</b> Proceso de Rotoevaporación del extracto de antocianinas.....	40
<b>Anexo 9.</b> Realización del método gravimétrico para la obtención de sólidos totales...41	
<b>Anexo 10.</b> Datos obtenidos de los pesos de los crisoles antes y después de colocar el concentrado. ....	41
<b>Anexo 11.</b> Proceso de Microencapsulación del concentrado de antocianinas.....	41
<b>Anexo 12.</b> Proceso de medición de los espectros del concentrado de antocianinas, microencapsulado y polímero maltodextrina. ....	42
<b>Anexo 13.</b> Espectro infrarrojo de la unión del concentrado de antocianinas, microencapsulado y polímero. ....	42
<b>Anexo 14.</b> Prueba en placa de 96 pocillos para determinar la actividad antioxidante..43	
<b>Anexo 15.</b> Curva de calibración del trolox. ....	43

## RESUMEN EJECUTIVO

Tungurahua al ser una de las provincias con mayor producción de Mora, la idea de recuperar antocianinas a partir de los residuos agroindustriales de esta fruta, surge como un tema de vital importancia, ya que las sustancias bioactivas que se encuentran presentes en la piel de la mora, no solo confieren el característico color y sabor a la fruta, sino que también poseen propiedades antioxidantes y grandes beneficios para la salud humana.

Para la extracción de antocianinas se utilizó etanol 96 por ciento como disolvente, al que se le añadió ácido cítrico para preservar la estabilidad de estos bioactivos, frente a factores que podrían afectar su integridad. Posteriormente se microencapsuló con maltodextrina, para preservar la actividad del bioactivo, prolongando así su vida útil, para finalmente determinar la actividad antioxidante de las antocianinas.

Se determinaron que las condiciones óptimas para obtener mayor cantidad de antocianinas fueron, la relación 1:15 material vegetal - volumen disolvente por 30 minutos. En el proceso de microencapsulación, se obtuvo una eficiencia de 78,178 por ciento, indicando una microencapsulación efectiva. Por otra parte, en la determinación de la actividad antioxidante, se obtuvo 55,606 por ciento de inhibición DPPH en el concentrado (Trolox referente de 311,711 micromol por litro) y un 29,342 por ciento en el microencapsulado (Trolox referente de 205,550 micromol por litro), teniendo en cuenta que, en este valor solo hay el 20 por ciento del concentrado. Este proceso representa un avance significativo en la valorización de residuos agroindustriales y la producción sostenible de compuestos bioactivos.

**Palabras claves:** Residuos agroindustriales, actividad antioxidante, antocianinas, microencapsulación, mora de castilla, bioactivo.

## ABSTRACT

Tungurahua being one of the provinces with the highest production of blackberry, the idea of recovering anthocyanins from the agroindustrial waste of this fruit, arises as a topic of vital importance, since the bioactive substances that are present in the skin of the blackberry, not only give the characteristic color and flavor to the fruit, but also have antioxidant properties and great benefits for human health.

For the extraction of anthocyanins, 96 percent ethanol was used as a solvent, to which citric acid was added to preserve the stability of these bioactives against factors that could affect their integrity. Subsequently, they were microencapsulated with maltodextrin to preserve the activity of the bioactive, thus prolonging their useful life, to finally determine the antioxidant activity of the anthocyanins.

It was determined that the optimum conditions to obtain the highest amount of anthocyanins were 1:15 plant material - solvent volume for 30 minutes. In the microencapsulation process, it was obtained an efficiency of 78.178 percent, indicating effective microencapsulation. On the other hand, in the determination of the antioxidant activity, it was obtained 55.606 percent DPPH inhibition in the concentrate (Trolox referent of 311.711 micromol per liter) and 29.342 percent in the microencapsulated (Trolox referent of 205.550 micromol per liter), taking into account that in this value there is only 20 percent of the concentrate. This process represents a significant advance in the valorization of agro-industrial waste and the sustainable production of bioactive compounds.

**Key words:** Agroindustrial waste, antioxidant activity, anthocyanins, microencapsulation, blackberry of castile, bioactive.

## CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. Mora de Castilla

La Mora Andina o de castilla, conocida por su nombre científico *Rubus glaucus* es una especie de mora nativa perteneciente a la familia de las Rosáceas, se cultiva en varias regiones de América Latina con alta humedad relativa del 80% o 90% y un clima subtropical o templado con temperaturas de 12 a 18 grados Celsius (**Carrillo et al., 2015**). Esta fruta principalmente se encuentra en países como Colombia, Ecuador, México y Perú, esta especie es muy resistente a las plagas y enfermedades habituales que afectan los cultivos, volviéndose la más consumida y teniendo mayor aceptación por el productor, presentando así mayor productividad en comparación con otras especies (**Cevallos, 2020**).

Esta fruta, comienza a estar lista para cosechar después de 10 a 12 meses desde su plantación, desde ahí empieza sus cosechas semanalmente de manera continua, donde su producción aumenta considerablemente con el tiempo y logra estabilizarse a los 18 meses, destacando que la producción adecuada de las plantas estaría dentro del rango de 10 a 15 años, eso depende del trato y cuidado que se les brinda (**Cardona & Bolaños, 2019**). Sin embargo, son altamente perecederas durante la poscosecha, donde alrededor del 30% del producto recolectado es descartado, a causa de dificultades en la conservación de estos frutos, resultando tener una vida útil corta de alrededor de 10 días (**Carrillo et al., 2015**).

Esta fruta es de gran importancia comercial y tiene alta demanda para consumo procesado o fresco, por su alto valor nutricional (**Arrubla et al., 2022**). Por lo que, su calidad depende netamente de la madurez exacta de la fruta ya que, gracias a esto, la fruta podrá ser transportada y comercializada sin ningún problema, pues su vida útil poscosecha está relacionada directamente con esto. Es así que, si los frutos se encuentran inmaduros, no alcanzarán las propiedades organolépticas adecuadas y si

están demasiado maduros, la vida útil de los frutos será demasiada corta, incrementando su descomposición (**Horvitz et al., 2017**).

Esta fruta es rica en nutrientes, según estudios realizados por **Grande et al. (2020)**, es una fuente natural de antioxidantes, vitamina C, K, ácido fólico, calcio, magnesio, potasio y fibra dietética. Asimismo, sus residuos agroindustriales, son una fuente rica en antocianinas, nutrientes y otros compuestos, considerándolos así, como un material muy valioso para la extracción de antocianinas, ya que las moras son conocidas por ser una fuente rica en estos pigmentos (**Guijarro et al., 2019**).

Estudios realizados en **Arrubla et al. (2022)**, menciona que las moras son frutas altamente perecederas, esto significa que tiene una vida útil relativamente corta después de ser cosechada, por lo que provoca que una gran parte de la cosecha puede deteriorarse antes de llegar al mercado o a ser procesada, lo que incrementa la cantidad de residuos generados. Con el paso de los años los residuos obtenidos después de la producción y comercialización de la mora de castilla tendrán un gran impacto gracias a los nutrientes que esto poseen, que beneficiaran a la industria de manufactura de esta fruta.

### **1.1.2. Residuos de la Mora de Castilla**

Gracias a que existe gran cantidad de producción de mora en la provincia, es trascendental aprovechar los residuos de mora de Castilla para extraer antocianinas ya que contribuye a reducir la cantidad de desechos agrícolas que se llegan a generar en periodos relativamente cortos (**Montalvo, 2010**), debido a que su cosecha es estacional, esto quiere decir que ocurre en momentos específicos del año debido a las condiciones climáticas y naturales que influyen en el crecimiento y maduración de dicho cultivo (**Espín et al., 2020**).

Los residuos también contienen compuestos valiosos que pueden ser reutilizados y equilibrar los principios de sostenibilidad y la economía circular, donde se busca minimizar el desperdicio y maximizar la utilización de recursos disponibles, lo que es beneficioso desde una perspectiva ambiental y económica (**Díaz et al., 2020**).

Las industrias de alimentos suelen tener información detallada del procesamiento y la gestión de residuos que generan anualmente, por lo que es importante destacar su uso ya que permite aprovechar los nutrientes que los residuos aun conserven. En el caso de la mora, las semillas obtenidas en la manufactura de la fruta conservan actividad estabilizante de radicales libres con la finalidad de reducir iones metálicos y neutralizar el óxido nítrico, además es rico en metabolitos secundarios (Allauca, 2019).

El potencial económico de la recuperación de antocianinas a partir de los residuos agroindustriales de la mora de castilla radica en su valor intrínseco como compuestos de alto valor, ya que aumenta la posibilidad de transformar residuos en productos comercializables y la diversificación de las oportunidades comerciales en diversos sectores (Rovira et al., 2017). Este enfoque no solo puede generar ingresos adicionales, sino que también puede contribuir a la sostenibilidad económica y ambiental de las operaciones de las industriales dedicadas a la manufactura de la fruta.

### 1.1.3. Antocianinas

Las antocianinas son una de las clases de flavonoides más abundantes en las plantas, que están compuestas por una molécula de aglicona, unida a un azúcar mediante un enlace  $\beta$ -glucosídico. La estructura básica de las agliconas es el ión flavilio, llamado también 2-fenilbenzopirilio, que consta de dos anillos aromáticos (un benzopirilio y un anillo fenólico), que se encuentran unidos entre sí (Aguilera et al., 2011), como muestra la Figura 1.

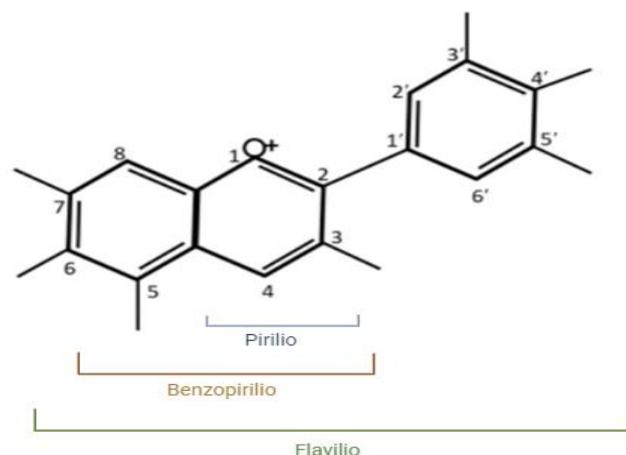


Figura 1. Estructura general de las antocianinas (Kent et al., 2018).

La mora como tal poseen gran cantidad de antocianinas, por lo que sus residuos también contienen cierto porcentaje de estos compuestos, esto se puede constatar en su coloración, ya que son pigmentos naturales responsables de la pigmentación de varios vegetales o frutas de colores intensos, como bayas, cerezas, uvas, remolachas, etc (**Rai & Tzima, 2021**).

Las antocianinas tienen propiedades antioxidantes y se ha demostrado que poseen beneficios para la salud y además contribuye a controlar el estrés oxidativo del organismo (**Arrubla et al., 2022**).

#### **1.1.4. Estrés oxidativo**

El estrés oxidativo aparece por reacciones químicas, acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, que producen gran cantidad de especies químicas reactivas o conocidas también como radicales libres (altamente reactivos) (**Jomova et al., 2023**), que tienen la capacidad de dar lugar a muchas reacciones con otros compuestos presentes en el organismo y provocar daño celular (**Díaz et al., 2013**).

La oxidación es el proceso principal para obtención de energía en la vida, sin embargo, tiene efectos negativos ya que, debido al metabolismo celular descontrolado a nivel mitocondrial (**Chaudhary et al., 2023**), el organismo tiende a generar ciertas estructuras que incluyen radicales libres de hidroxilo, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico y superóxido, que son moléculas muy reactivas que provocan el deterioro de macromoléculas, alterando los procesos celulares y causando enfermedades degenerativas (**Pizzino et al., 2017**).

Entonces, para contribuir a contrarrestar los radicales libres, el organismo tiene defensas naturales como la generación de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (**Sharifi et al., 2020**), que en ciertas ocasiones no son suficientes, porque el organismo empieza a trabajar erróneamente.

### **1.1.5. Beneficios de las antocianinas**

**Salehi et al. (2020)**, ha demostrado que las antocianinas tienen propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, indicando que pueden tener beneficios directos para la salud, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares, mejorando la salud ocular, fortaleciendo el sistema inmunológico y previniendo ciertos tipos de cáncer provocados por el estrés oxidativo en el organismo. También, intervienen en la prevención de estas enfermedades, ya que contribuyen como agentes quimioprotectores con la finalidad de cuidar la vida humana de mejor manera (**Shen et al., 2022**).

De este modo, el uso de las antocianinas contribuye a la salud, por lo que se puede emplear en las industrias de diferente forma, como sustituto natural de aditivos, colorantes naturales, suplementos, entre otros. Sin embargo, al ser sensibles a factores como el pH, la temperatura, la luz y la presencia de agentes oxidantes, tiende a perder ciertas propiedades importantes (**Montoya et al., 2022**), por lo que, se busca soluciones para contribuir a esta problemática, optando por microencapsular el compuesto bioactivo con gran capacidad antioxidante con la finalidad de preservarlo para su posterior aplicación en distintos ámbitos, ya sea alimenticia, farmacéutica y cosmética.

### **1.1.6. Microencapsulación**

Dentro de las técnicas existentes para microencapsular se encuentran el secado por enfriamiento, por aspersión, por congelamiento, coacervación y extrusión (**Yan et al., 2022**), pero la más usada a nivel de industria y con excelente rendimiento es la de secado por aspersión. Este método, como material encapsulante usa polímeros naturales o sintéticos, entre estos se encuentra el quitosano, goma arábica, alginato, proteínas, polímeros sintéticos, entre otros (**Baltrusch et al., 2022**). Estos materiales deben ser seguros para el consumo humano y adecuados para proteger el compuesto bioactivo, por lo que elegirlo dependerá de las propiedades deseadas de las microcápsulas y las características del compuesto a encapsular.

La microencapsulación de secado por aspersión es una técnica que consiste en cubrir el compuesto bioactivo por un material encapsulante como membranas poliméricas que forman finalmente partículas llamadas microcápsulas (**Laureanti et al., 2023**). Este método es el más usado a escala industrial y es beneficioso ya que ayuda a proteger al bioactivo de la degradación causada por la exposición a la luz, el oxígeno y otros factores del ambiente, que provocan una baja prolongación de su vida útil. Además, las microcápsulas permiten la liberación controlada de las antocianinas en el momento y lugar deseados, mejorando la estabilidad y eficacia en sus posibles aplicaciones, como la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.

#### **1.1.7. Método de extracción de antocianinas y evaluación de la actividad antioxidante**

Los métodos de extracción de las antocianinas se realizan a condiciones controladas para evitar la inestabilidad de las mismas. Por lo general, la extracción se realiza con disolventes como etanol o metanol, estos dos contienen un poco de ácido clorhídrico HCl (15%), formando el catión flavilio, provocando que la estabilidad del bioactivo aumente en este medio (**Mattioli et al., 2020**). Sin embargo, a nivel industrial, el disolvente con resultados mayormente eficientes y de baja toxicidad es el etanol (**Tena & Asuero, 2022**).

**Grande et al. (2020)**, menciona que para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra o compuesto que sirve para neutralizar los radicales libres, el método de actividad antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) es el más adecuado. Este se basa en un principio importante, donde el radical DPPH es de color violeta oscuro, pero cuando reacciona con un antioxidante, el color cambia y toma un tono amarillo de acuerdo al número de electrones absorbidos, lo que ayuda a cuantificar la capacidad antioxidante de la muestra (**Baliyan et al., 2022**).

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo General**

- Proponer un proceso de recuperación de antocianinas a partir de residuos agroindustriales de Mora de castilla

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Extraer antocianinas presentes en el residuo agroindustrial usando etanol como disolvente
- Obtener un microencapsulado de antocianinas mediante secado por aspersion empleando polimeros naturales
- Determinar la actividad antioxidante de las antocianinas microencapsuladas

## **1.3. Hipótesis**

### **1.3.1. Hipótesis nula**

No se extraerá antocianinas con actividad antioxidante a partir de los residuos agroindustriales de la Mora de Castilla para microencapsular.

### **1.3.2. Hipótesis alternativa**

Se extraerá antocianinas con actividad antioxidante a partir de los residuos agroindustriales de la Mora de Castilla para microencapsular.

## **1.4. Señalamiento de las variables de hipótesis**

### **1.4.1. Variables dependientes**

Concentración de sólidos totales y concentración de antocianinas para microencapsular

### **1.4.2. Variables independientes**

Proporción material vegetal: volumen disolvente y tiempo de extracción

## **CAPÍTULO II.- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Materiales**

#### **2.1.1. Materia Prima**

- Residuos de Mora de Castilla de la empresa INALPEV

#### **2.1.2. Reactivos**

- Maltodextrina
- Solución Tampón Trolox
- Etanol 96%
- Metanol
- Ácido cítrico
- Agua destilada

#### **2.1.3. Materiales e Insumos**

- Matraces Erlenmeyer (500 ml)
- Vaso de Precipitación (250 ml, 500 ml y 1000 ml)
- Embudo de vidrio
- Frascos ámbar (120 ml y 1000 ml)

- Papel Aluminio (DIAMOND)
- Papel absorbente
- Tubos Eppendorf
- Paquete de fundas Ziploc de Aluminio
- Rollo de papel Aluminio
- Papel filtro

#### **2.1.4. Equipos**

- Balanza analítica Ohaus Adventurer-Pro
- Balanza de humedad MLS50-3
- Espectrofotómetro uv-vis fisher scientific
- Rotavapor JKA HB100
- Refrigerador Indurama
- Spray Dryer BUCHI B-290
- Espectroscopía Infrarroja Transformada Fourier (FTIR)
- Deshidratador por convección SmartHeat
- Plancha de calentamiento PC-6200
- Computador Hp con sistema operativo Windows 10

- Triturador de semillas

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Obtención de materia prima**

Los residuos de la Mora de Castilla que se utilizaron fueron obtenidos de INALPEV. Durante la recolección, la materia prima se colocó en bolsas Ziploc, se trasladó la muestra y se almacenó en congelación.

### **2.2.2. Acondicionamiento de los residuos de la Mora de Castilla**

Los residuos obtenidos se secaron a 60 °C, hasta eliminar toda la humedad existente.

### **2.2.3. Extracción de antocianinas de la Mora de Castilla**

Se utilizó una solución alcohólica – ácida (etanol 96% – ácido cítrico), hasta alcanzar una concentración de 2,5 %. Se aplicó la técnica de extracción dinámica con agitación y calentamiento a una temperatura de 60 °C, porque mantiene la estabilidad de la antocianina (**Arruda et al., 2021**). Empleando relaciones de residuo: disolvente 1:15 y 1:20 por 15 y 30 minutos a través de un diseño experimental  $2^2$ , la variable de respuesta fue la concentración de antocianinas en base seca.

#### **Variable dependiente**

- Concentración de sólidos
- Concentración de antocianinas

#### **Variable independiente**

- Variación de disolventes: 1: 15 y 1:20
- Tiempo: 15 min y 30 min

**Tabla 1.** *Diseño factorial 2<sup>2</sup> con dos niveles por cada factor.*

<b>Factor A</b>	<b>Factor B</b>	
	<b>15 min (t<sub>1</sub>)</b>	<b>30 min (t<sub>2</sub>)</b>
<b>Relación 1:15 (Rmv-vd)</b>	Rmv-vd t <sub>1</sub>	Rmv-vd t <sub>2</sub>
<b>Relación 1:20 (Rmv-vd)</b>	Rmv-vd t <sub>1</sub>	Rmv-vd t <sub>2</sub>

*Nota.* Rmv-vd representa la relación material vegetal – volumen disolvente y t es tiempo.

**Tabla 2.** *Estructura del diseño experimental 2<sup>2</sup>.*

<b>Tratamientos (T)</b>	<b>Factor A</b>	<b>Factor B</b>
1	1:15	15 min
2	1:15	30 min
3	1:20	15 min
4	1:20	30 min

Seguido a esto, se filtró la disolución con el fin de eliminar el material vegetal. Se separó el disolvente del extracto concentrado mediante rotoevaporación a 68 °C y revoluciones de 230 a 250 rpm; esto con el propósito de medir el volumen obtenido de concentrado de antocianinas. Finalmente, se guardó y se refrigeró en un frasco ámbar, debido a que este le protege de la luz y evita la alteración de las antocianinas (**Aranda, 2018**).

#### **2.2.4. Determinación de antocianinas**

A partir del extracto líquido obtenido de los residuos de la Mora de Castilla, se determinó la concentración de antocianinas mediante el uso del espectrofotómetro,

mismo que sirvió para medir la cantidad de luz absorbida o transmitida por la muestra en función de la longitud de onda. Este proceso se basa en la interacción de la luz con la materia y se utilizó para obtener la concentración de las antocianinas, donde se usó los datos obtenidos en la ecuación (1) mencionada por (Lee et al., 2005), para la determinación de antocianinas.

$$C(\text{mg/L}) = \frac{A * MW * DF * 1000}{\epsilon * 1} \quad (1)$$

Donde:

C = Concentración de antocianinas g/L.

A = Absorbancia obtenida.

MW= Peso molecular de cianidina 3-glucósido.

DF= Factor de dilución.

$\epsilon$  = Absortividad molar (cianidina 3-glucósido  $25965 \text{ cm}^{-1} \text{ mol l}^{-1}$ ).

(Lee et al., 2005)

### 2.2.5. Determinación de sólidos totales del extracto de Mora de Castilla

#### Balanza de Humedad

Para realizar el análisis de la humedad residual se efectuó por triplicado las réplicas, mediante la balanza de humedad, usando recipientes de Aluminio. Para esto, se aplicó la ecuación (2) de determinación de sólidos totales.

$$\% ST = 100 - \% \text{ humedad} \quad (2)$$

(Bastidas et al., 2020)

### **Método Gravimétrico Convencional**

Para la determinación de sólidos totales, se realizó el método convencional gravimétrico, donde se colocó por triplicado 1 ml de concentrado de antocianinas en distintos crisoles, para posteriormente ubicarlo a la estufa durante 24 horas a 105 °C, y luego llevarlos al desecador hasta que se enfríen para posteriormente pesarlos. Así, con los datos obtenidos en Anexo 10 y el uso de la ecuación (3), se determinaron los sólidos totales.

$$\% \text{ ST} = \frac{\text{Pf} - \text{Pv}}{\text{Pi} - \text{Pv}} * 100 \quad (3)$$

Donde:

%ST = Porcentaje de sólidos totales

Pv = Peso del crisol vacío

Pi = Peso inicial del crisol + 1 ml de concentrado de antocianinas

Pf = Peso final del crisol con la muestra carbonizada

(Van & Laurens, 2023)

### **2.2.6. Análisis estadístico de los datos**

Se realizó un análisis por triplicado en cada tratamiento, para valorar de mejor forma los efectos y variaciones de los factores cuantitativos sobre la variable respuesta. Para determinar la relación existente entre el Factor A (relación material vegetal-volumen disolvente) y el Factor B (tiempo de extracción), se realizó un análisis de Varianzas (ANOVA), para lo que se utilizará el software Statgraphics. Se analizó la influencia de cada factor sobre la variable de respuesta (Bastidas et al., 2020).

### 2.2.7. Elaboración de la disolución para el secado

Se tomó en cuenta una relación de antocianinas: agente encapsulante de 20:80. Se usó maltodextrina para preparar una solución mediante la disolución del polímero, mediante agitación a una temperatura de 45 °C, hasta obtener una mezcla homogénea. Este agente se usó debido a que tiene una eficiencia de 90,81 %, mejor que otros agentes existentes (**Bastidas et al., 2020**).

### 2.2.8. Microencapsulación de antocianinas

Para este proceso se alimentó la cámara de secado con una bomba peristáltica a un caudal de 7.5 ml/min y un caudal aspirador con su capacidad máxima (100%).

Se tomó en cuenta la temperatura de entrada para el secado de 150 °C y temperatura de salida de 90 °C (**Bastidas et al., 2020**). Cada ensayo se realizó por triplicado para posteriormente verificar la eficiencia de la microencapsulación mediante la ecuación (4).

$$EE\% = \frac{CT_{\text{agua}} - CS_{\text{etanol}}}{CT_{\text{agua}}} \quad (4)$$

Donde:

EE% = Eficiencia de microencapsulación

CT<sub>agua</sub> = Concentración total superficial de agua

CS<sub>etanol</sub> = Concentración total superficial de etanol

(**Riera, 2020**)

El polvo obtenido finalmente se envasó en bolsas Ziplock de papel Aluminio y se almacenó en un lugar fresco y seco.

### 2.2.9. Determinación de la actividad antioxidante *in vitro*

Para la determinación de la actividad antioxidante, se utilizó el método de DPPH (2,2 difenil-1-picrihidracilo), ya que este posee un radical con electrón desapareado de color azul-violeta, ayudando a la decoloración (amarillo pálido) a causa de la reacción generada por la presencia de una sustancia antioxidante (**Grande et al., 2020**). Así mismo, la curva de calibración se obtuvo a partir de una solución madre de Trolox, diluciones y un control, esto con la finalidad de realizar el cálculo del porcentaje de inhibición mediante la ecuación (5).

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \left[ 1 - \left( \frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \times 100 \right] \quad (5)$$

Donde:

$A_m$ = Absorbancia de la muestra

$A_b$ = Absorbancia del blanco reactivo

$A_c$ = Absorbancia del control

(Riera, 2020)

## CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Análisis y discusión de los resultados

#### 3.1.1. Tratamientos aplicados para la extracción de antocianinas

Se realizaron 6 réplicas de cada tratamiento, donde el primer factor analizado fue la relación material vegetal-volumen disolvente (Rmv-vd), obteniendo la relación 1:15 como el mejor parámetro. Así mismo, el mejor segundo factor fue, el tiempo de 30 minutos, indicando que, a estas condiciones, la extracción de las antocianinas es mejor. A continuación (Tabla 3), se puede observar los datos obtenidos, para determinar la cantidad en base seca existente en el mejor tratamiento.

**Tabla 3.** Datos obtenidos de las pruebas aplicadas a los tratamientos.

T	Réplicas	% H	% ST	Abs ( $\lambda=535$ )	C (g L <sup>-1</sup> )	BS/ 100(g) ST
1	1	95,455	4,545	0,166	0,2874	6,324
	2	95,410	4,59	0,162	0,2805	6,111
	3	95,441	4,559	0,163	0,2822	6,191
	4	95,455	4,545	0,167	0,2892	6,362
	5	95,451	4,549	0,165	0,2857	6,281
	6	95,502	4,498	0,168	0,2909	6,467
2	1	95,515	4,485	0,162	0,2805	6,254
	2	95,526	4,474	0,167	0,2892	6,463
	3	95,579	4,421	0,167	0,2892	6,541
	4	95,553	4,447	0,169	0,2926	6,580

T	Réplicas	% H	% ST	Abs ( $\lambda=535$ )	C (g L <sup>-1</sup> )	BS/ 100(g) ST
3	5	95,554	4,446	0,163	0,2822	6,348
	6	95,550	4,45	0,165	0,2857	6,420
	1	95,662	4,338	0,151	0,2615	6,027
	2	95,675	4,325	0,150	0,2597	6,005
	3	95,645	4,355	0,158	0,2736	6,282
	4	95,612	4,388	0,154	0,2667	6,077
4	5	95,653	4,347	0,159	0,2753	6,334
	6	95,619	4,381	0,156	0,2701	6,166
	1	95,587	4,413	0,144	0,2493	5,650
	2	95,591	4,409	0,144	0,2493	5,655
	3	95,544	4,456	0,143	0,2476	5,557
	4	95,506	4,494	0,146	0,2528	5,625
	5	95,593	4,407	0,141	0,2442	5,540
	6	95,548	4,452	0,139	0,2407	5,406

**Nota.** Interpretación de las siglas; % H= porcentaje de humedad, % ST = sólidos totales, Abs= absorbancia, C= concentración y BS= base seca de las antocianinas.

Durante la extracción, al etanol 96% se le añadió ácido cítrico con la finalidad de mantener la estabilidad en este punto (Siskawardani et al., 2020), y conseguir mayor cantidad del bioactivo. Resultando que el mejor tratamiento fue el 2, ya que dentro de sus réplicas se obtuvo una concentración de antocianinas de 0,2926 g/L en el extracto y en base seca se obtuvo 6,580 gramos por cada 100 gramos de sólidos totales.

Grande et al. (2020), menciona que el componente mayoritario en los extractos de los residuos de mora son las antocianinas, mismas que son las responsables de otorgarles el color, de rojo hasta azul oscuro (Horvitz et al., 2017).

### 3.1.2. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un diseño factorial  $2^2$ , mediante el cual se realizó un análisis de la varianza ANOVA, para evaluar diferencias significativas entre diferentes tratamientos (Smalheiser, 2017), como se mira a continuación (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis de Varianza para Concentración de antocianinas vs Base seca.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>A: Rmv: vd</b>	1,5090	1	1,5090	103,7900	0,0000
<b>B: Tiempo</b>	0,2791	1	0,2791	19,1900	0,0003
<b>AB</b>	0,7805	1	0,7805	53,6800	0,0000
<b>Error total</b>	0,2908	20	0,0145		
<b>Total (corr.)</b>	2,8594	23			

El valor del coeficiente de determinación R-cuadrado ( $R^2$ ) obtenido en el análisis fue de 89,8306 %, mismo que brindó información sobre la variabilidad en la variable dependiente, que es explicada por el modelo de regresión (Chicco et al., 2021).

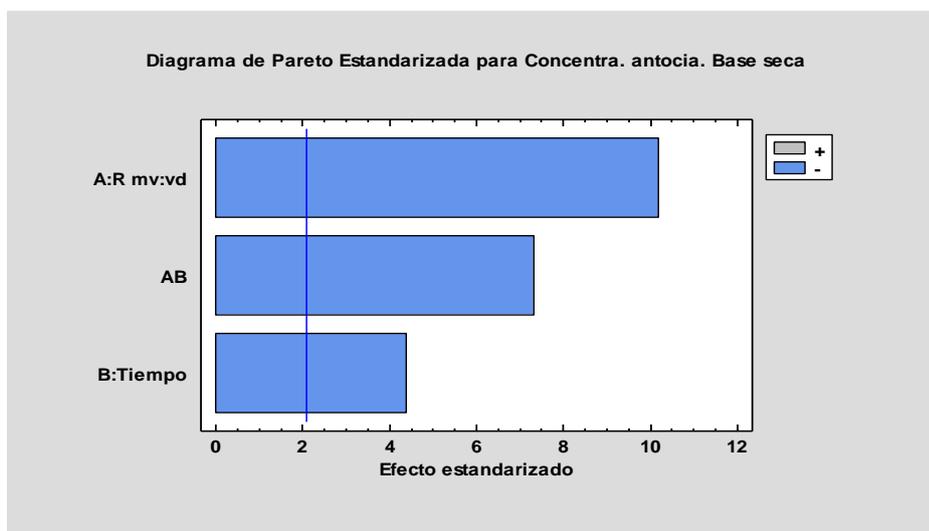
(Ivanescu et al., 2016), menciona que  $R^2$  es una herramienta con poder predictivo, este varía de 0 a 1 o en porcentaje de 0 al 100%, donde 0 indica que el modelo no explica ninguna variabilidad y 1 indica que el modelo explica toda la variabilidad. Además, los valores más altos revelan un mayor poder explicativo o un buen ajuste del modelo a los datos observados, lo que implica que la mayoría de la variabilidad en la variable dependiente ha sido capturada por el modelo.

De este modo, del análisis de ANOVA se obtuvo la ecuación (6) del modelo ajustado, en donde C representa la Concentra de antocianinas; R es la relación material vegetal-volumen disolvente y T es el tiempo de la extracción.

$$C \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = 6,11108 - 0,25075 * R - 0,107833 * T - 0,180333 * R * T \quad (6)$$

Es así, que con los datos analizados se obtuvo un diagrama de Pareto, esta es una gráfica que se encarga de organizar datos en forma decreciente y que permite ordenar prioritariamente aquellos factores con mayor incidencia a diferencia de otros (Alkiayat, 2021).

A continuación, se muestra el diagrama de Pareto (Figura 2), donde se puede observar la relación que tuvieron las variables, notando que existió mayor significancia en el nivel más bajo de los tratamientos, el Factor A (Rmv-vd). Así mismo, el nivel más alto conocido como Factor B (tiempo), también lo es, mostrando que están estrechamente relacionados. Evidentemente se puede decir que tanto un factor como el otro son significativos, así como la interacción entre estos.

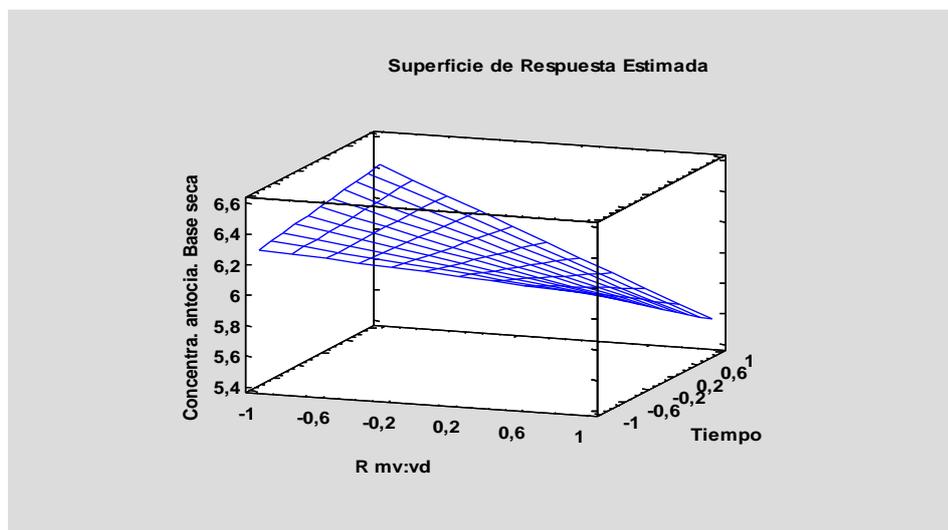


**Figura 2.** Diagrama de Pareto de la influencia de los factores en la extracción de antocianinas a partir de los residuos de la mora de castilla.

Por lo tanto, los datos analizados también sirvieron para obtener un gráfico de superficie de respuesta, este generalmente muestra una perspectiva tridimensional que describe un sistema con alta precisión (Kumari & Gupta, 2019), mismo que se encarga de establecer valores de respuesta y condiciones de operación deseables (Jiju, 2023).

De este modo, en la gráfica de superficie (Figura 3), donde se muestran los efectos principales en la extracción de antocianinas, permitió confirmar la influencia existente

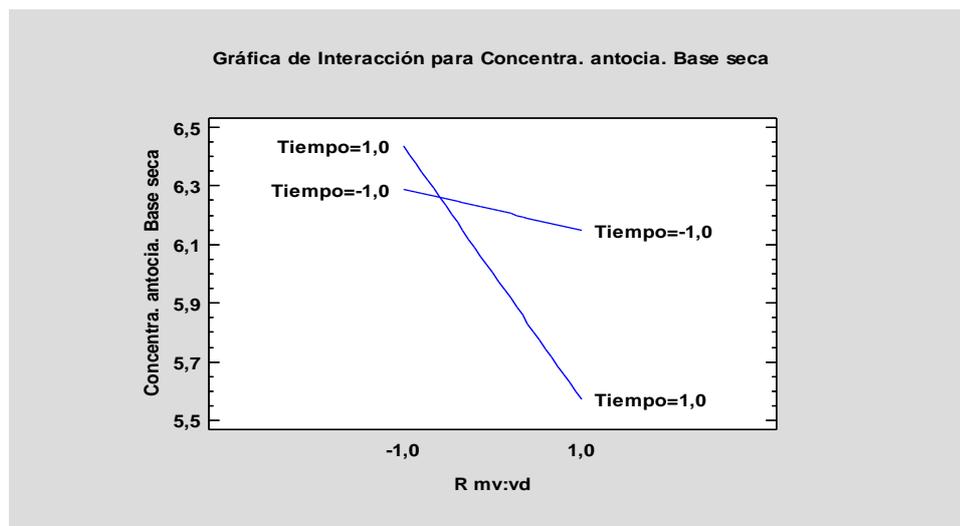
de los factores utilizados, como son; la relación 1:15 del material vegetal – volumen disolvente (Rmv-vd) y el tiempo de extracción de 30 minutos, demostrando que estas condiciones son óptimas para la extracción.



**Figura 3.** Diagrama de superficie de respuesta de los efectos principales en la extracción de antocianinas de la mora.

**Zapata et al. (2014)**, menciona que el rendimiento de extracción esta influenciado por los diferentes factores, la temperatura de extracción y la relación sólido-líquido, donde el tiempo no tuvo efecto significativo. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que, en el caso de las antocianinas extraídas de los residuos de la mora de castilla, la relación material vegetal-volumen disolvente más bajo tiene mayor eficiencia a un tiempo mayor, a una temperatura de 60 °C contante.

Igualmente, en la gráfica de interacciones (Figura 4) se pudo constatar, cómo estos factores se relacionan entre sí a lo largo del tiempo, confirmando por tercera vez que las condiciones óptimas mencionadas anteriormente, interactúan significativamente. Lo que significa que, tanto el uno como el otro, son parámetros importantes que influyen para la extracción optima



**Figura 4.** Diagrama de interacción para concentración de antocianinas en base seca.

### 3.1.3 Obtención del concentrado de antocianinas

El extracto obtenido a las condiciones óptimas (relación 1:15 material vegetal-volumen disolvente durante 30 minutos), se rotoevaporó a 68°C hasta reducir su volumen, separando el etanol del concentrado de antocianinas, consiguiendo 143 ml solo del concentrado, para su posterior uso.

### 3.1.4 Sólidos totales del concentrado de antocianinas

Los sólidos totales del concentrado se obtuvieron mediante el uso de la balanza de humedad, sin embargo, arrojaron resultados erróneos, esto pudo deberse a que el concentrado contiene ácido cítrico, que pudo estar haciendo contacto con la placa de aluminio, que pertenece a la balanza. Según **Katoh, (1968)**, menciona que, al exponer el aluminio al ácido cítrico, provoca corrosión lenta ya que un estudio de la corrosión del aluminio en solución cítrica, forma con el metal un compuesto quelado soluble, lo que pudo causar una alteración en los resultados del concentrado, al estar expuesto al calor. Por esta razón, se optó por determinar los sólidos totales mediante método gravimétrico convencional, lo que resultó favorable, ya que con los cálculos realizados se obtuvo 43,6369 % de sólidos totales.

### 3.1.5 Microencapsulación de las antocianinas

A partir del porcentaje de sólidos totales obtenidos, se preparó una mezcla polimérica con maltodextrina, en una relación 20:80 de antocianinas: agente encapsulante. Donde se usó 22,920 ml del concentrado, 40 gramos de maltodextrina y 157,750 gramos de agua, que fueron homogenizados hasta obtener una adecuada textura, obteniendo 22,845 gramos de microencapsulado.

La elección del polímero cumple un papel fundamental en la estabilidad del material del núcleo (Sousa et al., 2022), ya que el método de microencapsulación mediante secado por aspersión, se basa en recubrir las partículas sólidas o líquidas mediante un agente microencapsulante, encargado de aislar el núcleo para protegerlo (Achmad et al., 2023). A continuación (Tabla 5), se muestran los resultados de la eficiencia de microencapsulación.

**Tabla 5.** Resultados obtenidos de la eficiencia de microencapsulación de las antocianinas de los residuos de mora de castilla.

	Replica (dilución 1:100)	Abs (535nm)	Concentración (mg/L)	Promedio de concentración	Eficiencia (%)
<b>Absorbancia en agua</b>	1	0,630	1,176	1,209	78,178
	2	0,632	1,180		
	3	0,681	1,272		
<b>Absorbancia en etanol</b>	1	0,140	0,263	0,264	
	2	0,141	0,265		
	3	0,142	0,264		

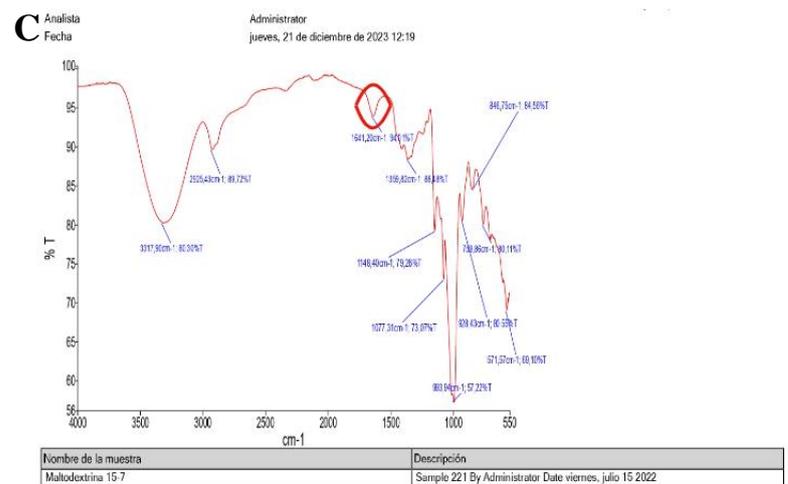
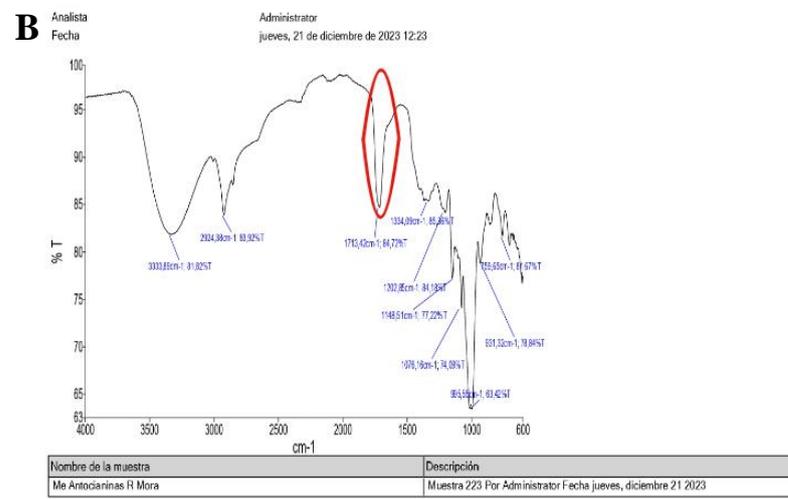
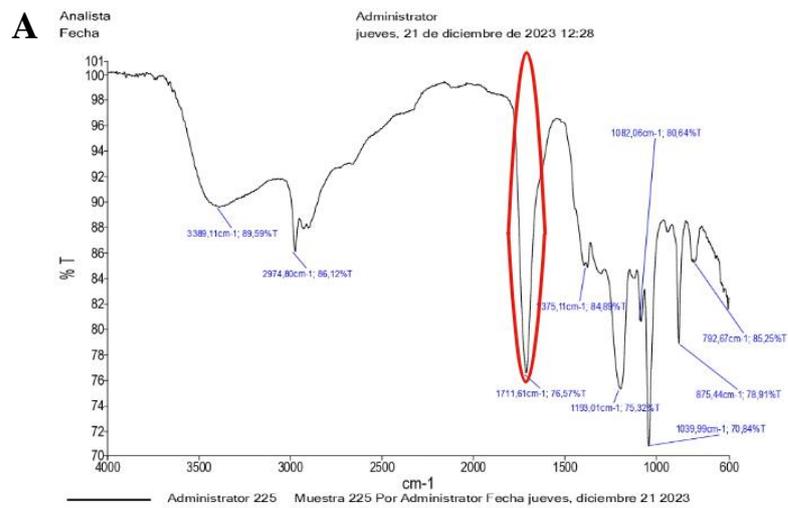
Para el porcentaje de eficiencia de la microencapsulación, se trabajó con tres replicas, mismas que fueron diluidas 1:10. Para microencapsular se usó el polímero maltodextrina en una relación de antocianinas: agente encapsulante 20:80, mediante el

método de secado por aspersión. Obteniendo finalmente 78,178 % de eficiencia de la fécula fina de color rosado como se muestra en el Anexo 11, debido al color natural de las antocianinas contenidas dentro de la matriz polimérica (**Carpio & Figueroa, 2017**). Sin embargo, **Righi da Rosa et al. (2019)**, menciona que las formulaciones que contiene una mayor concentración de maltodextrina muestran mayor eficiencia de encapsulación, motivo por el cual, pudo haber variación en mis resultados

Según **Rios & Gil. (2021)**, indican que, durante la microencapsulación, los parámetros de secado por aspersión, la temperatura de alimentación, así como la de entrada y salida de aire, entre otros componentes, influyen en la eficiencia del microencapsulado, provocando un deterioro en algunos de sus ingredientes. Sin embargo, en este estudio se controlaron los parámetros mientras se microencapsularon las antocianinas.

### **3.1.6. Análisis mediante espectroscopía infrarroja (FT-IR)**

La espectroscopía infrarroja de Fourier (FT-IR), es considerado un método muy fácil y rápido (**Padhi & Behera, 2022**), que funciona con la incidencia de una luz infrarroja que atraviesa una muestra, con el propósito de distinguir distintas estructuras o grupos funcionales, puesto que se encarga de estudiar los fenómenos de interacción entre la radiación de origen infrarrojo y la materia (**Tasumi, 2014**). A continuación (Figura 5), se muestran los espectros infrarrojos.



**Figura 5.** Espectros infrarrojos FT-IR. A) Concentrado de antocianinas, B) microencapsulado y C) polímero maltodextrina.

Los espectros infrarrojos que se muestra en la figura 5, son el concentrado de antocianinas, el microencapsulado y polímero maltodextrina. **A)** se presentan los grupos funcionales característicos de la antocianina cianidina 3-glucósido del extracto, donde se observa un pico del grupo C=O de  $1711,61\text{cm}^{-1}$ , el grupo aromático de  $1039,99$ ;  $1082,06$  y  $1193,01\text{ cm}^{-1}$  y el grupo funcional OH de  $3389,11\text{ cm}^{-1}$  y combinaciones C-H de  $2974,80\text{ cm}^{-1}$ . En **B)** se puede observar el espectro del microencapsulado, obteniendo el pico de  $1713,42\text{ cm}^{-1}$ . A diferencia de las dos anteriores, **C)** muestra un pico mucho más pequeño. Según **Barragán et al. (2018)** menciona que los espectros muestran grupos funcionales C=O que se encuentran picos de  $1640$  a  $1680\text{ cm}^{-1}$ , los grupos aromáticos va de  $1500$  a  $1600\text{ cm}^{-1}$  en cambio en el grupo funcional O-H quelatado o hidro cetona va de  $3200$  a  $3500\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.1.7. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante se realizó la prueba DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), en la que el radical DPPH se caracteriza porque expresa un color violeta intenso, donde su mayor absorbancia se produce a  $517\text{ nm}$  y que, al reaccionar con los antioxidantes, estos son capaces de proveer un átomo de hidrógeno, reduciéndolo a DPPH-H (2,2-difenil-1-hidrazina) (**Mfotie, 2021**), mismo que presenta una coloración amarillo pálido, como se puede observar en el Anexo 14.

**Baliyan et al. (2022)** menciona que existe mayor decoloración a medida que la cantidad de electrones captados aumenta, donde el cambio de coloración es medida en un espectrofotómetro y la absorbancia obtenida, es la cuantificación de la capacidad antioxidante, después de un tiempo colocado a reposo las muestras en la placa de 96 pocillos, mientras se produce la reacción.

El porcentaje de inhibición obtenido del extracto fue de  $55,606\%$  y del microencapsulado fue de  $29,342\%$ . Sin embargo, el valor real que representa el 20% del concentrado utilizado sería  $11,121\%$  de inhibición, pero el valor obtenido es mayor, lo que constata que existe buen % de inhibición.

El trolox, es un antioxidante muy conocido (**Yushkova et al., 2018**), que fue utilizado para obtener la curva de calibración en un rango de  $50$  a  $500\text{ }\mu\text{mol/L}$ , como se muestra

en el Anexo 15, de donde se sacó la ecuación de la recta para obtener la concentración de trolox referente de cada muestra, resultando 311,711  $\mu\text{mol/L}$  del extracto y 205,550  $\mu\text{mol/L}$  del microencapsulado como se puede observar en la Tabla 6, lo que significa que existe mayor capacidad antioxidante en el extracto que en el microencapsulado, debido a que en el microencapsulado el recubrimiento con maltodextrina provoca que preserve la capacidad antioxidante de la antocianina (Navarro et al., 2020).

**Tabla 6.** Resultados de la actividad antioxidante de antocianinas.

Muestra	FD	% Inhibición DPPH	Curva trolox ( $\mu\text{mol/L}$ )
Extracto de antocianinas		55,606 $\pm$ 2,355	311,711 $\pm$ 9,517
Microencapsulado de antocianinas	0,010	29,342 $\pm$ 4,352	205,550 $\pm$ 17,590

### 3.2. Verificación de hipótesis

Mediante el análisis de varianza ANOVA realizado en los diferentes ensayos, resultó que, a partir del nivel de significancia de 0,05 y el valor obtenido de  $p < 0,05$ , se determinaron los siguientes resultados:

$H_0 \neq 0$  Se rechaza la hipótesis nula.

$H_a = 0$  Se acepta la hipótesis alternativa por lo que se considera que los distintos factores que se analizaron si influyen en la extracción de antocianinas con actividad antioxidante.

## CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. Conclusiones

- La propuesta de un proceso para la recuperación de antocianinas a partir de residuos, permitió establecer distintos parámetros para una extracción eficiente de antocianinas de los residuos agroindustriales de la mora de castilla, reduciendo la contaminación y aprovechando uno de los compuestos bioactivos presentes en ellos. Este punto integra aspectos técnicos, medioambientales y posiblemente económicos, ya que se promueve la generación de productos con viabilidad comercial, para posibles aplicaciones en industrias alimentarias y de suplementos.
- La elección del etanol 96% como disolvente, más la adición del ácido cítrico para la extracción de antocianinas, demostró ser una opción eficaz y respetuoso con el medio ambiente, ya que es menos tóxico que otros disolventes existentes y se puede recuperar para reutilizar. La mejor relación material vegetal – volumen disolvente fue 1:15, lo que significa que por cada 1 gramo de residuo se colocó 15 ml de disolvente, obteniendo una concentración de antocianinas de 6,580 gramos, siendo una extracción considerable en residuos de la mora.
- La obtención de un microencapsulado de antocianinas, utilizando maltodextrina como polímero de recubrimiento, ha demostrado ser exitosa, ya que se obtuvo 30,751 gramos de microencapsulado a partir del concentrado de las antocianinas extraídas. Además, se evidencia un alto porcentaje de eficiencia de microencapsulación, alcanzando un valor del 78,178 %, resultado que indica, que el secado por aspersión, junto con el empleo de maltodextrina, ha sido eficiente en la retención de las antocianinas. Es así que, mediante espectroscopia infrarroja se constató que el proceso de microencapsulación fue adecuado y valida la integridad estructural de la microcápsula, destacando la viabilidad de la técnica, para preservar las propiedades de las antocianinas.

- La determinación de la actividad antioxidante de las antocianinas microencapsuladas revela resultados significativos. A pesar de que el % de inhibición DPPH del concentrado de antocianinas alcanzó un valor notable del 55,606 % (equivalente en trolox a 311,711  $\mu\text{mol/L}$ ), la eficacia antioxidante del microencapsulado fue superior, registrando el 29,342 % (equivalente en trolox de 205,550  $\mu\text{mol/L}$ ), si se tiene en cuenta que en el microencapsulado solo hay un 20 % del extracto.

#### **4.2. Recomendaciones**

- Se recomienda probar con otro ácido, como el ácido clorhídrico que, según investigaciones actuales, es más eficiente que el cítrico, para obtener mayor cantidad de antocianinas.
- Se recomienda, conocer previamente la etapa de maduración de la fruta, de la cual se va a obtener los residuos, para obtener una extracción de antocianinas mayormente eficiente.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### Referencias bibliográficas

- Achmad, E., Dzaky, M. I., Zikri, A., Rachmanudiputra, A., Abizar, F., Fauzi, B., & Suharyadi, Y. S. (2023). Microencapsulation of maltodextrin and gelatin using spray drying with double-condenser compression refrigeration systems. *Case Studies in Thermal Engineering*, 45, 102931. <https://doi.org/10.1016/j.csite.2023.102931>
- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista Biotecnia*. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/viewFile/81/75>
- Alkiayat, M. (2021). A Practical Guide to Creating a Pareto Chart as a Quality Improvement Tool. *Global Journal on Quality and Safety in Healthcare*, 4. <https://doi.org/10.36401/JQSH-21-X1>
- Allauca, R. (2019). Aprovechamiento de residuos agroindustriales, a base de cáscara de zanahoria (*Daucus carota*), remolacha (*Beta vulgaris*) y mora (*Rubus glaucus*) para una bebida mediante liofilización. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5938>
- Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum. Spp*) variedades Puca—Shungo y Yana—Shungo [Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/27504>
- Arrubla, J., Santa, V., Guerrero, G., & Cardona, N. (2022). Valorización de los frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus Benth*) afectados por hongos fitopatógenos en la cadena comercializadora a partir de la evaluación de su perfil volátil. *Ciencia Transdisciplinar en la Nueva Era*, 2022, ISBN 978-628-95135-3-0, págs. 144-161, 144-161. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8728332>
- Arruda, H. S., Silva, E., Peixoto, N., Pereira, G., Pastore, G., & Marostica, M. (2021). Anthocyanins Recovered from Agri-Food By-Products Using Innovative Processes:

Trends, Challenges, and Perspectives for Their Application in Food Systems. *Molecules*, 26(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/molecules26092632>

Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>

Baltrusch, K., Torres, M., Domínguez, H., & Flórez, N. (2022). Spray-drying microencapsulation of tea extracts using green starch, alginate or carrageenan as carrier materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 203, 417–429. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.129>

Barragán-Condori, M., Delgado-Laime, M. del C., Carrasco-Sauñe, E., Quispe-Gutiérrez, U. S., Barragán-Condori, M., Delgado-Laime, M. del C., Carrasco-Sauñe, E., & Quispe-Gutiérrez, U. S. (2021). Antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de frutos secos y congelados de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer. *Información tecnológica*, 32(5), 3-12. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642021000500003>

Bastidas, V., López, O., & Hernández, Y. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante del contenido de antocianinas microencapsuladas de mora (*Rubus glaucus* benth). *Revista de La Facultad de Ciencia e Ingeniería En Alimentos y Biotecnología*, 27(2), 63–78.

Cardona, W. A., & Bolaños, M. M. (2019). Manual de nutrición del cultivo de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.) bajo un esquema de buenas prácticas en fertilización integrada. En Editorial AGROSAVIA. Editorial AGROSAVIA. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.manual-18>

Carpio, R., & Figueroa, T. (2017). Efecto de la adición de goma arábiga y maltodextrina en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en extracto de sancayo (*corryocactus brevistylus*) liofilizado [Universidad Nacional de San Agustín]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/a6657a84-c767-44c9-8141-415bb87c18f3>

- Carrillo, E., Aller, A., Cruz, S. M., Giampieri, F., & Alvarez, J. M. (2015). Andean berries from Ecuador: A review on Botany, Agronomy, Chemistry and Health Potential. *Journal of Berry Research*, 5(2), 49-69. <https://doi.org/10.3233/JBR-140093>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A., Yeskaliyeva, B., Abdull, A., Modu, B., Calina, D., & Sharifi, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Chicco, D., Warrens, M., & Jurman, G. (2021). The coefficient of determination R-squared is more informative than SMAPE, MAE, MAPE, MSE and RMSE in regression analysis evaluation. *PeerJ Computer Science*, 7, e623. <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.623>
- Díaz, G., Escobar, W., & Pizarro, E. (2013). Estrés Oxidativo Cuando el equilibrio se pierde. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4736013.pdf>
- Díaz, N., Menoscal, R., & González, M. (2020). Circular economy: challenges for a strategic vision of exporting companies. *Revista Compendium: Cuadernos de Economía y Administración*, 7(3), 120–135. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8232785.pdf>
- Espín, R., Rivera, M., Rivera, V., Santos, F., Guerrero, I., Zambrano, L., & Borja, E. (2020). Rendimiento y atributos de calidad de mora (*Rubus glaucus* Benth) de cuatro zonas productoras de Bolívar. *Revista de Investigación Talentos*, 7(2), Article 2. <https://doi.org/10.33789/talentos.7.2.133>
- Grande, C., Araujo, L., Flórez, E., & Aranaga, C. (2020). Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth). *Informador Técnico*, 85(1), 64–82. <https://doi.org/10.23850/22565035.2932>
- Guijarro, M., Andrade, M. J., Obando, P., Romero, S., Moreno, C., & Alcívar-León, C. (2019). Retención de antocianinas en frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth) sin espinas sometidos a diferentes tratamientos poscosecha. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 20(2). <https://www.redalyc.org/journal/813/81361553007/html/>

- Horvitz, S., Chanaguano, D., & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.002>
- Ivanescu, A., Li, P., George, B., Brown, A., Keith, S., Raju, D., & Allison, D. (2016). The Importance of Prediction Model Validation and Assessment in Obesity and Nutrition Research. *International journal of obesity*, 40(6), 887-894. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.214>
- Jiju, A. (2023). A systematic methodology for design of experiments. En *Design of Experiments for Engineers and Scientists (Third Edition, pp. 33-50)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15173-6.00002-0>
- Katoh, M. (1968). Influence of chelating agent (citric acid) and F<sup>-</sup> on corrosion of Al. *Corrosion Science*, 8(6), 423-431. [https://doi.org/10.1016/S0010-938X\(68\)90084-X](https://doi.org/10.1016/S0010-938X(68)90084-X)
- Kent, K., Hölzel, N., & Swarts, N. (2018). Chapter 10 - Polyphenolic Compounds in Sweet Cherries: A Focus on Anthocyanins. En R. R. Watson, V. R. Preedy, & S. Zibadi (Eds.), *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease (Second Edition)* (pp. 103-118). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813006-3.00010-6>
- Laureanti, E., Paiva, T., Matos, L., & Matos, R. (2023). Microencapsulation of bioactive compound extracts using maltodextrin and gum arabic by spray and freeze-drying techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126969. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126969>
- Lee, J., Durst, R., & Wrolstad, R. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P. (2020). Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 25(17), 3809. <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>

- Mfotie, E. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer (2.<sup>a</sup> ed., pp. 349-357). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128195475000316>
- Montalvo, D. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2653/1/CD-3336.pdf>
- Montoya, S., Castillo, B., Cajas, M., & Garcia, F. (2022). Actividad antioxidante, fenoles totales y tamizaje fitoquímico de Dragón Fruit roja y amarilla. *RECIAMUC*, 6(3), 408–417. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.408-417](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.408-417)
- Navarro, K., Capillo, N., Calixto, M. R., & Santisteban, O. P. (2020). Extracción y microencapsulación de compuestos antioxidantes de la semilla de *Oenocarpus bataua* Mart. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 547-554. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.04.10>
- Padhi, S., & Behera, A. (2022). Chapter 17 - Biosynthesis of Silver Nanoparticles: Synthesis, mechanism, and characterization. En K. A. Abd-Elsalam, R. Periakaruppan, & S. Rajeshkumar (Eds.), *Agri-Waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials* (pp. 397-440). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823575-1.00008-1>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Rai, D. K., & Tzima, K. (2021). A Review on Chromatography–Mass Spectrometry Applications on Anthocyanin and Ellagitannin Metabolites of Blackberries and Raspberries. *Foods*, 10(9), 2150. <https://doi.org/10.3390/foods10092150>
- Riera, A. (2020). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de la planta sangorache (*Amaranthus quitensis*) [Universidad Técnica de Ambato]. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31405/1/BQ%20232.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31405/1/BQ%20232.pdf)

- Righi da Rosa, J., Nunes, G., Motta, M., Fortes, J., Cezimbra, G. C., Rychcki, L., Muller, E., Ragagnin, C., & Severo da Rosa, C. (2019). Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 89, 742-748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.042>
- Rios, S., & Gil, M. A. (2021). Microencapsulación por secado por aspersion de compuestos bioactivos en diversas matrices: Una revisión. *TecnoLógicas*, 24(51). <https://www.redalyc.org/journal/3442/344265925008/html/>
- Rovira, S., Patiño, J., & Schaper, M. (2017). Ecoinnovación y producción verde Una revisión sobre las políticas de América Latina y el Caribe. [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40968/1/S1700072\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/40968/1/S1700072_es.pdf)
- Salazar, N., Enríquez, S., Zuñiga, B., & González, G. (2023). Residuos agroindustriales como fuente de nutrientes y compuestos fenólicos. *Epistemos*, 17(34). <https://doi.org/10.36790/epistemos.v17i34.265>
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Cappellini, F., Reiner, Z., Zorzan, D., Imran, M., Sener, B., Kilic, M., El-Shazly, M., Fahmy, N. M., Al-Sayed, E., Martorell, M., Tonelli, C., Petroni, K., Docea, A. O., Calina, D., & Maroyi, A. (2020). The Therapeutic Potential of Anthocyanins: Current Approaches Based on Their Molecular Mechanism of Action. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1300. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.01300/BIBTEX>
- Sharifi, M., Anil, N., Zucca, P., Varoni, E., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh, P., & Azzini, E. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2020.00694>
- Shen, Y., Zhang, N., Tian, J., Xin, G., Liu, L., Sun, X., & Li, B. (2022). Advanced approaches for improving bioavailability and controlled release of anthocyanins. *Journal of Controlled Release*, 341, 285–299. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2021.11.031>

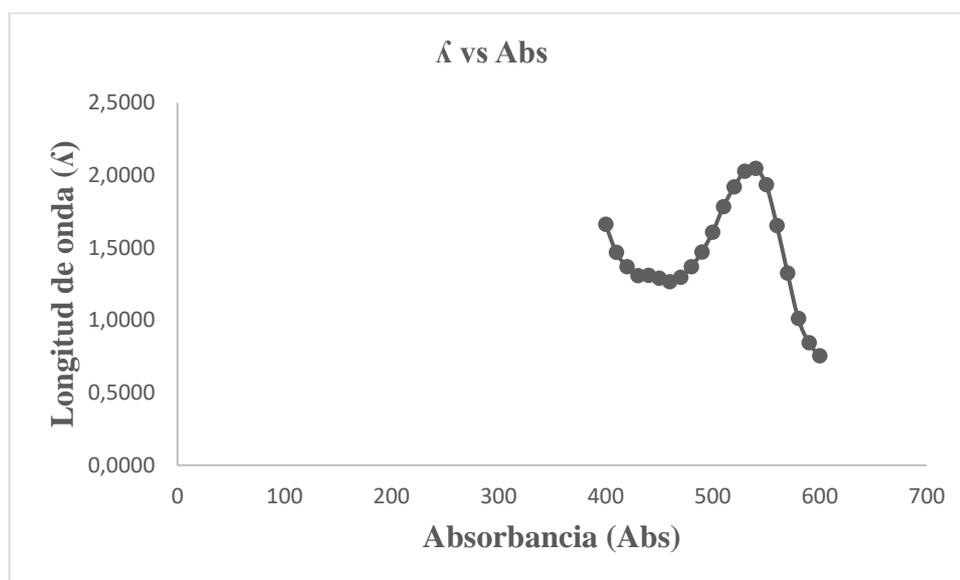
- Siskawardani, D., Khilmi, S., Putra, R., Agustin, R., & Wista, S. (2020, julio 29). The Effect of Citric Acid on Teak Leaves Anthocyanin Extraction Process (*Tectona grandis* L.) and The Teak Leaves Extract Proportion to The Physical and Chemical Syrup Characteristics.
- Smalheiser, N. (2017). Chapter 11—ANOVA. En *Data Literacy* (pp. 149-155). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811306-6.00011-7>
- Sousa, V., Parente, J., Marques, J., Forte, M., & Tavares, C. (2022). Microencapsulation of Essential Oils: A Review. *Polymers*, 14(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/polym14091730>
- Tasumi, M. (2014). *Introduction to Experimental Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Practical Methods*. John Wiley & Sons. <https://books.google.com.ec/books?hl=en&lr=&id=lh3iBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA153&dq=Introduction+to+Experimental+Infrared+Spectroscopy:+Fundamentals+and+..&ots=oIVX4KJ8I5&sig=un8FyVz2Aki05rsQ3sWVbIkVVDM>
- Tena, N., & Asuero, A. (2022). Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants*, 11(2), 286. <https://doi.org/10.3390/antiox11020286>
- Van, S., & Laurens, L. (2023). Determination of Total Solids and Ash in Algal Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (NREL/TP-5100-60956). National Renewable Energy Lab. (NREL), Golden, CO (United States). <https://doi.org/10.2172/1118077>
- Yan, C., Kim, S. R., Ruiz, D. R., & Farmer, J. R. (2022). Microencapsulation for Food Applications: A Review. In *ACS Applied Bio Materials* (Vol. 5, Issue 12, pp. 5497–5512). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00673>
- Yushkova, Y., Chernyak, E., Gatilov, Y., Vasil'ev, V. G., Morozov, S., & Grigor'ev, I. (2018). Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1), 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.10.008>

Zapata, L., Heredia, A., Quinteros, C., Malleret, A., Clemente Polo, G., & Cárcel Carrión, J. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, docencia y tecnología*, 25(49), 166-192. <https://riunet.upv.es/handle/10251/66805>

Zumba, J. (2022). Manejo agro-técnico del cultivo de mora de castilla (*Rubus glaucus*), en la sierra ecuatoriana [Universidad Técnica de Babahoyo]. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11297>

## Anexos

**Anexo 1.** *Gráfica del barrido espectral de la disolución de antocianinas usando etanol como blanco.*



**Anexo 2.** Datos obtenidos en el barrido espectral de una disolución de antocianinas usando etanol como blanco, a una longitud de onda de 400 a 600 nm.

<b>Longitud de onda (nm)</b>	<b>Abs</b>
400	1,6608
410	1,4686
420	1,3680
430	1,3078
440	1,3087
450	1,2900
460	1,2653
470	1,2951
480	1,3677
490	1,4701
500	1,6070
510	1,7817
520	1,9200
<b>530</b>	<b>2,0476</b>
540	2,0266
550	1,9352
560	1,6536
570	1,3251
580	1,0116
590	0,8436
600	0,7541

**Nota:** Se constató que la absorción máxima fue 2,0476 que marca la longitud de onda de 530, verificando que el tipo de antocianina con la que realizamos el estudio es cianidina 3-glucósido, que se encuentra dentro del rango de longitud de onda perteneciente a este tipo de antocianina.

**Anexo 3.** *Residuos agroindustriales de la mora de castilla.*



**Anexo 4.** *Acondicionamiento de los residuos de la mora de castilla en el deshidratador por convección.*



**Anexo 5.** *Trituración de los residuos de la mora de castilla.*



**Anexo 6.** Preparación de la solución alcohólica – ácida (etanol 96% más ácido cítrico).



**Anexo 7.** Proceso de extracción de antocianinas a partir de residuos de la mora de castilla.



**Anexo 8.** Proceso de Rotoevaporación del extracto de antocianinas.



**Anexo 9.** Realización del método gravimétrico para la obtención de sólidos totales.

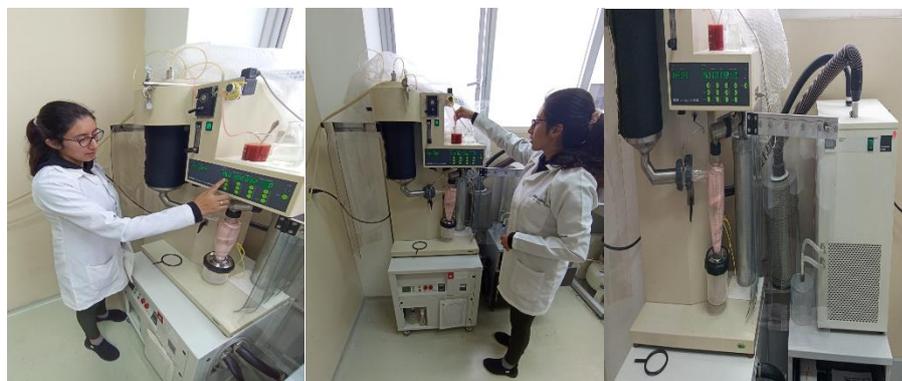


**Anexo 10.** Datos obtenidos de los pesos de los crisoles antes y después de colocar el concentrado.

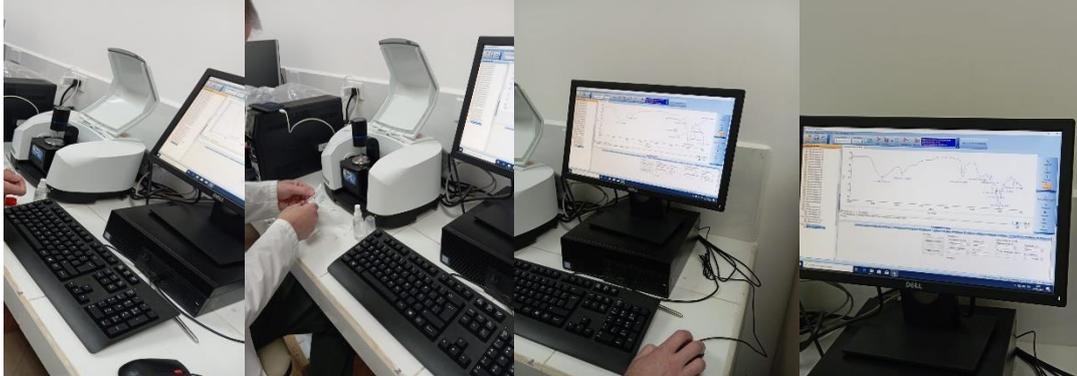
Pv (g)	Pi (g)	Pf (g)	%ST	$\bar{x}$
26,006	27,2249	26,5629	45,6887	
26,5741	27,8065	27,0976	42,4781	43,6369
25,7625	26,9725	26,2797	42,7438	

**Nota:** Interpretación de las siglas presentes en la tabla; Pv = peso del crisol vacío, Pi = peso inicial del crisol + 1 ml de concentrado de antocianinas, Pf = peso final del crisol con la muestra carbonizada y % ST = porcentaje de sólidos totales.

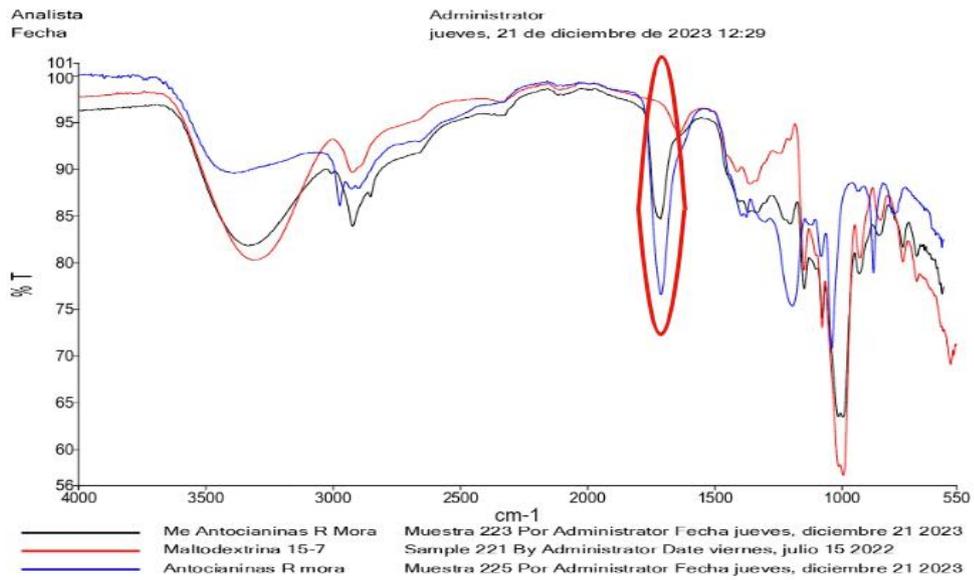
**Anexo 11.** Proceso de Microencapsulación del concentrado de antocianinas.



**Anexo 12.** *Proceso de medición de los espectros del concentrado de antocianinas, microencapsulado y polímero maltodextrina.*

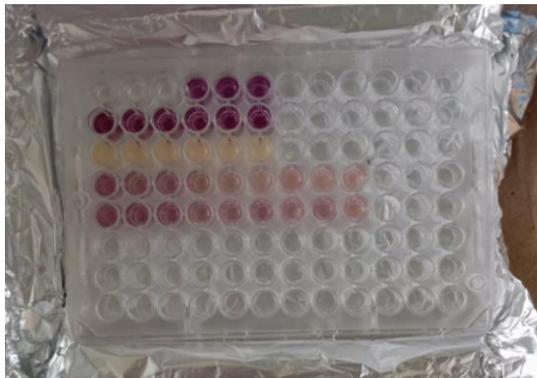


**Anexo 13.** *Espectro infrarrojo de la unión del concentrado de antocianinas, microencapsulado y polímero.*



**Nota:** Los tres picos que están en recuadro rojo, mismos que muestras que la maltodextrina, recubre eficientemente al concentrado.

**Anexo 14.** Prueba en placa de 96 pocillos para determinar la actividad antioxidante.



**Nota:** En la placa se muestran **A)** El blanco (metanol: agua - 80:20) se encuentra en los tres espacios de la primera fila, seguido del control (DPPH + agua destilada). **B)** El reactivo DPPH. **C)** Muestra (DPPH + extracto). **D)** Muestra (DPPH + microencapsulado) a distintos gramos y diluciones, siendo la más efectiva 0,05 gramos en 1 ml de etanol, diluida 1:100.

**Anexo 15.** Curva de calibración del trolox.

