



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**



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

MAESTRIA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

MODALIDAD DE TITULACIÓN PRESENCIAL

Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico
de Magister en Ciencia de los Alimentos

Tema: EXTRACCIÓN Y MICROENCAPSULACIÓN DE LICOPENO
EXTRAÍDO A PARTIR DE RESIDUOS DE TOMATE DE ÁRBOL
(*Solanum betaceum*) Y SU FORMULACIÓN EN CÁPSULAS DURAS

Autor(a): Ing. Nelly del Pilar Pazmiño Miranda

Director(a): PhD. Orestes Darío López Hernández

Ambato – Ecuador

Mayo - 2022



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
INFORMACIÓN GENERAL**

TEMA: EXTRACCIÓN Y MICROENCAPSULACIÓN DE LICOPENO EXTRAÍDO A PARTIR DE RESIDUOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y SU FORMULACIÓN EN CÁPSULAS DURAS

AUTOR: Nelly del Pilar Pazmiño Miranda

Ingeniera en Alimentos

nd.pazmino@uta.edu.ec

DIRECTOR: PhD. Orestes Darío López Hernández

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN.

- Producción agroalimentaria sostenible.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

**A LA UNIDAD ACADÉMICA DE TITULACIÓN DE LA FACULTAD DE
CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

El tribunal receptor del Trabajo de Titulación presidida por la Doctora Mirari Yosune Arancibia Soria, e integrado por los señores: PhD. Irvin Ricardo Tubon Usca, PhD. Nelly Esther Flores Tapia, designados por la Unidad Académica de Titulación de Posgrado de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Informe de Investigación con el tema: Extracción y microencapsulación de licopeno extraído a partir de residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y su formulación en cápsulas duras, elaborado y presentado por la señora Ingeniera Nelly del Pilar Pazmiño Miranda, para optar por el grado Académico de Magíster en Ciencia de los Alimentos; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación, el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.

PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria
1802142461
Presidenta del Tribunal

PhD. Irvin Ricardo Tubon Usca
0604250357
Miembro del tribunal

PhD. Nelly Esther Flores Tapia
1716253305
Miembro del tribunal



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Titulación presentado con el tema: Extracción y microencapsulación de licopeno extraído a partir de residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y su formulación en cápsulas duras, le corresponde exclusivamente a: la Ingeniera Nelly del Pilar Pazmiño Miranda, Autora bajo la Dirección del PhD. Orestes Darío López Hernández, Director del Trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

Ingeniera, Nelly del Pilar Pazmiño Miranda
1803278025
AUTORA

PhD. Orestes Darío López Hernández
1754784864
DIRECTOR



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el trabajo de titulación sirva como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigaciones, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este documento, dentro de las resoluciones de la Universidad.

Ingeniera, Nelly del Pilar Pazmiño Miranda
1803278025
AUTORA



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación le dedico a mis padres, mi esposo y mi hija.

A mis padres Wilson y Nelly, quienes me apoyaron desde el primer momento y en donde comprendí que la familia siempre estará ahí, apoyándonos.

A mi esposo, Mauricio, el cual es mi motor de apoyo, con el que siempre cuento para salir adelante en las buenas y en las malas.

A mi hija María José, por entenderme y comprenderme, pues no siempre he podido estar contigo hija mía, que te amo con todo el corazón.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi tutor Dr. Orestes López, quien ha sido mi gran apoyo, desde el primer momento en que se realizó el anteproyecto, hasta el final, con la culminación de la escritura de la tesis. Una persona que, con su conocimiento, sonrisa y acompañamiento, siempre estuvo ahí apoyándome y empujándome para culminar esta investigación.

A la Dra. Danae Fernández por su acompañamiento en parte de la ejecución del proyecto de investigación.

A la Dra. Diana Coello, por su colaboración en el tamaño y microscopía de los microencapsulados de licopeno.

A la Dra. Mirari Arancibia, por facilitarme los reactivos y ayudarme cada vez que me encontraba en el laboratorio con equipos y materiales. Además, por su gestión para el ingreso de ayudantes a los laboratorios, facilitando de esa manera la ejecución de este trabajo.

A Giovanni Freire por su apoyo en el laboratorio de microbiología, parte esencial para la determinación de capacidad antioxidante in vivo.

A todas las autoridades y personal de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, quienes han colaborado en la ejecución de esta investigación.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

ÍNDICE GENERAL

Contenido

INFORMACIÓN GENERAL	ii
A LA UNIDAD ACADÉMICA DE TITULACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA	iii
AUTORIA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos.....	2
1.3.1. General.....	2
1.3.2. Específicos	3
CAPITULO II ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	4
2.1 Antecedentes Investigativos	4
CAPITULO III MARCO METODOLÓGICO	7
3.1. Ubicación.....	7
3.2. Equipos y materiales.....	7
3.3. Tipo de investigación	8
3.4. Prueba de Hipótesis pregunta científica idea a defender	9
3.5. Población o muestra:	9
3.6 Recolección de información:	9
3.6. 1 Obtención de los extractos vegetales	9
3.6. 2 Obtención del microencapsulado.....	10
3.6. 3 Formulación de cápsulas duras	10
3.7 Procesamiento de la información y análisis estadístico:	12



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3.8 Variables respuesta o resultados alcanzados	12
3.8.1 Eficiencia de Extracción	12
3.8.2 Concentración de Licopeno	12
3.8.3 Eficiencia de microencapsulación	13
3.8.3 Determinación del pH.....	14
3.8.4 Determinación de índice de refracción	14
3.8.5 Determinación de viscosidad.....	14
3.8.6 Determinación de humedad	14
3.8.7 Espectroscopía Infrarroja de la transformada de Fourier.....	14
3.8.8 Morfología de las microcápsulas	14
3.8.9 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	15
3.8.10 Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	16
3.8.11 Peso de la formulación de cada cápsula.....	18
3.8.12 Tiempo de desintegración.....	18
3.8.10 Índice de Hausner	18
3.8.10 Índice de Carr.....	19
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1 Eficiencia de extracción	20
4.2 Rendimiento y concentración de los lotes microencapsulados	21
4.3 pH, índice de refracción y viscosidad del extracto líquido	21
4.4 Humedad del microencapsulado.....	22
4.5 Espectroscopía infrarroja de la transformada de Fourier	23
4.6 Morfología y aspecto de la superficie de las microcápsulas	25
4.6 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	27
4.9 Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	29



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

4.10 Diseño de una formulación de cápsulas duras de licopeno microencapsulado con capacidad antioxidante.....	31	
CAPÍTULO V CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS		35
5.1. Conclusiones.....	35	
5.2. Recomendaciones	36	
5.3. Bibliografía.....	37	
5.4. Anexos	41	

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. <i>Formulación de cápsulas duras de licopeno</i>	11
Tabla 2. <i>Eficiencia de Extracción de Licopeno</i>	20
Tabla 3. <i>Eficiencia de Extracción de Licopeno</i>	21
Tabla 4. <i>pH, índice de refracción y viscosidad del extracto líquido</i>	22
Tabla 5. <i>Porcentaje de humedad del microencapsulado</i>	23
Tabla 6. <i>Resultados de inhibición por DPPH</i>	30
Tabla 7. <i>ANOVA para peso promedio de formulación de cápsulas</i>	31
Tabla 8. <i>Combinaciones adecuadas de cápsulas duras en función del peso</i>	32
Tabla 9. <i>ANOVA para tiempo desintegración de cápsula</i>	32
Tabla 10. <i>Combinaciones adecuadas de cápsulas duras en función del tiempo de desintegración</i>	33
Tabla 11. <i>Combinaciones adecuadas de cápsulas duras en función del peso y tiempo de desintegración</i>	33



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 <i>Espectroscopía infrarroja de la transformada de Fourier de los microencapsulados de licopeno</i>	24
Figura 2. <i>Fotos de Microscopía de barrido electrónico de los microencapsulados de licopeno (a) Lote 1 con aumento de 516X, (b) Lote 2 con un aumento de 304X y (c) Lote 3 con aumento de 776X</i>	25
Figura 3. <i>Imágenes de Microscopía de barrido electrónico de los microencapsulados de licopeno (a) Lote 1 con aumento de 516X, (b) Lote 2 con un aumento de 304X</i> .	26
Figura 4. <i>Curva de crecimiento de Saccharomyces cerevisiae frente al estrés oxidativo de H₂O₂ con una concentración 0,5 mmol/L</i>	27
Figura 5. <i>Curva de crecimiento de Saccharomyces cerevisiae frente al estrés oxidativo de H₂O₂ con una concentración 5 mmol/L</i>	29
Figura 6. <i>Curva de calibración de Trolox</i>	30



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

RESUMEN

Se obtuvo industrialmente microencapsulado de licopeno, el cual fue extraído a partir de los residuos del tomate de árbol, la extracción se realizó en etanol al 96 por ciento, a 55 grados centígrados durante 60 minutos para el concentrado y posteriormente se utilizó el método de secado por aspersion para el microencapsulado, mezclando con goma arábica y maltodextrina. Obteniendo como resultado una concentración de licopeno por cada kilogramo de material vegetal de 43,78 mg para el lote 1; 45,20 mg para el lote 2 y 43,22 mg para el lote 3. En lo que respecta a la eficiencia de microencapsulación se alcanzaron porcentajes de 93,61; 90,44 y 96,78 respectivamente para cada lote. Además, se realizó un diseño de formulación en cápsulas duras de gelatina formato cero, del licopeno microencapsulado, encontrándose mejores resultados con 8 mg de aerosil, 20 mg de sodio almidón glicolato, 22 mg de celulosa microcristalina y 350 mg de microencapsulado para un peso promedio por cápsula de 412,92 mg y un tiempo de desintegración de 9,09 minutos.

Palabras Claves: extracto, carotenoides, secado por aspersion, microcápsulas, cápsulas duras de gelatina.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

ABSTRACT

Microencapsulated lycopene was obtained industrially, which was extracted from tree tomato residues, the extraction was carried out in 96 percent ethanol, at 55 degrees Celsius for 60 minutes. Subsequently the spray drying method was used to prepare the microencapsulation by mixing gum arabic and maltodextrin. As a result, were obtaining, a concentrations of lycopene for each kilogram of plant material of 43.78 mg for batch 1; 45.20 mg for batch 2 and 43.22 mg for batch 3. Regarding the microencapsulation efficiency, respectively for each lot, 93.61, 90.44 and 96.78 percent, were reached. In addition, of microencapsulated lycopene, a formulation design was carried out in hard gelatin capsules format zero, finding better results with 8 mg of aerosil, 20 mg of sodium starch glycolate, 22 mg of microcrystalline cellulose and 350 mg of microencapsulated for an average weight, per capsule, of 412.92 mg and a disintegration time of 9.09 minutes

Keywords: extract, carotenoids, spray drying, microcapsules, hard gelatin caps



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

CAPÍTULO I EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

En la presente investigación se realizó la extracción y microencapsulación de licopeno extraído a partir de residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) además de su formulación en cápsulas duras, la metodología que se usó para la extracción y microencapsulación fue: secado de las cáscaras de tomate de árbol a 50 °C durante 55 horas, molinado, extracción en etanol al 96 %, a 50 °C durante 60 minutos, centrifugación, obtención del extracto, concentración del extracto, emulsificación del extracto con una mezcla de agua, maltodextrina y goma arábiga, homogenización y microencapsulación mediante secado por aspersión (temperatura de entrada de 120 °C, temperatura de salida 80 °C, carga 30 %).

Para evaluar la calidad del extracto se analizó la viscosidad, índice de refracción y pH. En las microcápsulas se determinó la humedad, eficiencia de microencapsulación a través de espectrofotometría infrarroja de la transformada de Fourier y evaluación morfológica por microscopía de barrido electrónica.

También se evaluó la capacidad antioxidante de los microencapsulados *in vitro* mediante el método del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y la capacidad antioxidante *in vivo* usando cepas de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 como modelo de estudio.

Además, se realizó un diseño de mezclas para establecer la mejor formulación de cápsulas duras de gelatina, en donde las variables de respuesta evaluadas fueron el peso promedio de cápsula y el tiempo de desintegración.

Con la presente investigación se logró aprovechar al máximo los residuos del proceso de fabricación de pulpa de tomate de árbol que fueron desechados en las fábricas de elaboración de mermeladas y jaleas, logrando extraer los carotenoides presentes, los cuales brindan beneficios a la salud, por tener capacidad antioxidante y ayudan a combatir algunos tipos de cáncer.

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

1.2. Justificación

La cáscara de tomate es un desecho que se produce industrialmente en las plantas procesadoras de alimentos, siendo un problema de carácter ambiental y económico para las empresas, al convertirse en un desecho sin aprovechamiento.

Una manera de aprovechar las cáscaras de tomate de árbol sería mediante procesos fisicoquímicos para extraer carotenoides y especialmente el licopeno, pues se ha demostrado que el licopeno es un carotenoide con actividad antioxidante, beneficioso para la salud humana, pues reduce el colesterol LDL, disminuye la cantidad de infartos, combate algunos tipos de cáncer y reduce el envejecimiento celular (Martínez-Navarrete et al., 2008)

Siendo ésta una alternativa, para el uso de los desechos agroindustriales, ya que existen investigaciones previas (Pérez & Fernández, 2019) sobre la extracción del licopeno a nivel de laboratorio, por lo que es necesario realizar pruebas de escalado de los procesos de extracción, y microencapsulación para llevar estas operaciones a nivel industrial.

El licopeno no es estable, debiendo su degradación a efectos de la temperatura, la luz u otros efectos de condiciones ambientales, razón por la que se deben buscar alternativas o métodos de conservación como es la microencapsulación, a través del secado por aspersion con el objetivo de protegerlo.

Es por eso que la presente investigación pretende obtener una forma terminada sólida a partir del extracto de licopeno microencapsulado a escala piloto, obtenido a partir de los desechos del tomate de árbol (*Solanum betaceum*).

1.3. Objetivos

1.3.1. General

- Escalar a nivel piloto el proceso de extracción y microencapsulación del licopeno de los desechos del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y formular cápsulas duras.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

1.3.2. Específicos

- Escalar el proceso de extracción del licopeno a nivel piloto.
- Microencapsular el extracto rico en licopeno a nivel piloto.
- Caracterizar fisicoquímicamente el ingrediente activo obtenido a nivel piloto.
- Evaluar la capacidad antioxidante *in vivo* e *in vitro* del microencapsulado obtenido.
- Diseñar una formulación de cápsulas duras de licopeno microencapsulado con capacidad antioxidante.

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

CAPITULO II ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

2.1 Antecedentes Investigativos

El licopeno es un carotenoide responsable del color rojo del tomate de árbol, que tiene propiedades antioxidantes, la estructura del licopeno es acrílica con fórmula $C_{40}H_{56}$ de cadena abierta con trece dobles enlaces de los que son once conjugados, característica que hace que sea muy reactivo al oxígeno y radicales libres (Reyna et al., 2013).

El licopeno actúa protegiendo a las células del estrés oxidativo previniendo enfermedades cardiovasculares, disminución del colesterol LDL, cáncer y envejecimiento celular (Salazar-lugo et al., 2016), además el licopeno tiene efectos positivos sobre el metabolismo oxidativo, protege a los linfocitos de los radicales nitritos y protege a la piel contra los rayos ultravioletas (Lorenzo Fuentes, 2019). Debido a la acción antioxidante del licopeno, se recomienda el consumo de tomate en forma cruda, cocinada, pues es considerado un alimento saludable (Periago et al., 2001)

También la acción antioxidante del licopeno, se puede ver beneficiado con sus propiedades de reducir el riesgo de padecer osteoporosis, pues el licopeno al tener el efecto antioxidante reduce el estrés oxidativo y los marcadores de volumen de hueso, él licopeno junto con la vitamina C y E tienen un efecto correlacional con la osteoporosis (Waliszewski & Blasco, 2010)

La microencapsulación es una técnica muy usada en la industria de los alimentos para convertir los líquidos en sólidos, mejorando la estabilidad oxidativa de los extractos vegetales, protegiendo los compuestos volátiles presentes de la oxidación, reacciones indeseables, luz y calor; alargando de esta forma la vida útil del licopeno. Un método muy efectivo para la microencapsulación es mediante el secado por aspersión, pues protege el licopeno de la oxidación (González & Martínez, 2015)

Algunos trabajos reportan la microencapsulación del licopeno extraído del tomate de árbol empleando una relación de material vegetal : Etanol 1:70, a un tiempo de extracción de 30 min, utilizando el secado por aspersión y los polímeros goma arábica



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

y maltodextrina, se obtiene un eficiencia de microencapsulación del 96,5 % (Pérez & Fernández, 2019)

Se determinó la cantidad de licopeno en jugo de tomate y polvo, mediante el secado por aspersión, encontrándose mejores resultados a una temperatura de 170 °C y 100 % de maltodextrina, la concentración de licopeno es de 917,61 µg/g en tomate fresco y 512,36 µg/g en tomate en polvo, siendo el licopeno el responsable del color rojo de los tomates y un importante indicador de calidad (Candelas et al., 2006).

La concentración de licopeno en cáscaras de tomate de árbol es de 1,22 mg por cada 100 g, encontrándose que el consumo de la cáscara de tomate aporta con licopenos, vitaminas y fibra dietética en la alimentación del ser humano (Candelas et al., 2006) Se encontró una eficiencia de extracción de 59,99 mg/100 g de pulpa de tomate (Cardona et al., 2006).

En lo que respecta a formulación existen distintos tipos de excipientes como son: fructuosa, almidón, celulosa, manitol, dióxido de silicio coloidal, sodio almidón glicolato, celulosa microcristalina. Su formulación dependerá de lo que se requiera conseguir para la sustancia activa, como el tiempo de desintegración y la fluidez, entre otros factores (Villafuerte-Robles, 2011).

La función del aerosil (dióxido de silicio coloidal) es la de absorber gran cantidad de agua, por lo que se le usa como excipiente en la formulación de cápsulas duras (Acofarma, 2021)

El sodio almidón glicolato ayuda a una mejor fluidez y tiene una función superdesintegrante, permitiendo una mejor solubilidad y rápida desintegración (Urbina et al., 2020; Villafuerte-Robles, 2011)

La celulosa microcristalina, se usa como portador de sabor y color (García García et al., 2006), aumenta la compresibilidad, pero disminuye la fluidez (Al-Gousous & Langguth, 2015; Villafuerte-Robles, 2011)

Investigaciones en extracto de té verde, envuelto en cápsulas de gelatina dura muestran un tiempo desintegración de 10 min, utilizando como disolvente una solución de ácido clorhídrico 1 mol/l a un pH de 1,2 (Glube et al., 2013).



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

En cápsulas de hipromelosa (HPMC Shell 1 y 2), que son una nueva alternativa para cápsulas de gelatina, el tiempo de desintegración es de 2,7 a 4,3 min en HPMC Shell1 y de 6,1 a 8,1 min para HPMC Shell 2, utilizando como medio disolución: ácido clorhídrico 0,1 mol/l, a una velocidad de 50 min^{-1} (Serry Ku et al., 2010)

Existe una relación entre el tiempo de desintegración y la solución que se use como disolvente, además el método a usar va a depender de la farmacopea que rige en cada país. Investigaciones demuestran que a un pH de 1,2 el 80 % de las formulaciones, no exceden los 15 minutos de tiempo de desintegración (Al-Gousous & Langguth, 2015).



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

CAPITULO III MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación

La extracción y microencapsulación a escala piloto se realizó en la empresa Andes Kinkuna S.A. y los análisis físico-químicos, capacidad antioxidante, y desarrollo de la forma sólida, se realizaron en los laboratorios de la unidad de investigación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

3.2. Equipos y materiales

Material vegetal.

- Cáscaras del tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

Material de laboratorio.

- Material de vidrio (GLASSCO)

Equipos de laboratorio.

- Biorreactor de tipo tanque agitado de 100 l de capacidad
- Balanza de humedad (KERN MLS 50-3)
- Espectrofotómetro (Fisher Scientific accuSkan GO)
- Horno de convección (GANDER MTN)
- Secador por aspersion (TPG 100)
- Molino de cuchillas (INOX-EQUIP)
- pH metro (Thermo Scientific ORION VERSASTAR)
- Refractómetro (ABBE NAR-2T)
- Viscosímetro (CANNON 150 Z285)
- Centrífuga de cesto
- Balanza



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

Reactivos

Obtención del extracto

- 100 l de etanol comercial al 96 % de pureza

Microencapsulación

- 5 kg de Goma Arábica (Roig Pharma)
- 5 kg de Maltodextrina (Roig Pharma)

Actividad antioxidante in vitro

- 1 g de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (Sigma-Aldrich).
- 5 l de metanol al 100 % de pureza (Scharlau).
- 1 g de Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) (Sigma Aldrich).

Actividad antioxidante in vivo

- 1 ampolla liofilizada de levadura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763
- 500 g de medio de cultivo YPD (Alpha Biosciences™)
- agentes oxidantes y antioxidantes como: peróxido de hidrogeno (LabFarmaWeir)
- Hipoclorito de sodio (Clorox)
- Vitamina C (Life).
- PBS (ThermoFisher Scientific) para la incubación previa al estrés de la levadura.

3.3. Tipo de investigación

La investigación que se realizó es tipo experimental, con enfoque cuantitativo porque se midieron variables físico-químicas de los productos intermedios obtenidos y los productos terminados.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

3.4. Prueba de Hipótesis pregunta científica idea a defender

La hipótesis a defender fue: ¿Es posible el escalar a nivel piloto el proceso de extracción convencional y microencapsulación de licopeno a partir de residuos de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y el desarrollo de una formulación en cápsulas duras?

Estableciendo que, si es posible obtener el microencapsulado a nivel de laboratorio a partir de las cápsulas de tomate de árbol, obteniendo un polvo fino con buenas características físico – químicas.

3.5. Población o muestra:

Se realizó el escaldado con tres lotes consecutivos de extractos para que se cumplan los objetivos específicos planteados.

3.6 Recolección de información:

3.6. 1 Obtención de los extractos vegetales

Se trabajó en el escaldado a partir de cáscaras del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) que constituyen el residual de la fabricación de pulpa de tomate de árbol de una empresa procesadora de frutas.

Las cáscaras del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) se secaron a una temperatura de 50 °C durante 55 horas fueron molidas hasta obtener un tamaño de partículas fino ($\leq 250 \mu\text{m}$) de acuerdo a la metodología de (Cardona & Rios, 2006).

Para la obtención del extracto, se mezclaron en una relación de material vegetal/volumen de disolvente de 1:70, el disolvente orgánico que se empleó fue etanol industrial al 96 %, con un tiempo de extracción de 60 min a una temperatura de 50 °C (Urbina et al., 2020). Se produjeron 3 lotes consecutivos de extractos.

3.6. 2 Obtención del microencapsulado

Una vez obtenido el extracto de licopeno, se realizó una mezcla con el 33,33% del extracto, 33,33 % de goma arábica y 33,33% de maltodextrina (la goma arábica y maltodextrina se diluyeron en agua destilada en una relación 1:6), para luego pasar a un proceso de homogenización de la emulsión a 200 rpm durante 10 minutos y microencapsular en un secador por aspersion industrial con capacidad de evaporación de agua de 100 kg/h, empleando una temperatura de entrada de 120 °C y una temperatura de salida de 80 °C (Urbina et al., 2020).

3.6. 3 Formulación de cápsulas duras

Con el microencapsulado de licopeno obtenido se realizó un diseño de mezcla, en donde se tomaron los pesos de cada cápsula y el tiempo de desintegración como variables de respuesta, el diseño de mezcla se presenta en la tabla 1.

Para la formulación de la cápsulas se realizó un diseño de mezcla, (Al-Gousous & Langguth, 2015; Villafuerte-Robles, 2011) considerando la siguiente composición:

- Dióxido de silicio coloidal (Aerosil) entre 4 y 8 mg
- Sodio almidón glicolato entre 12 y 20 mg
- Celulosa microcristalina entre 22 y 54 mg
- Ingrediente farmacéutico activo-licopeno (IFA) entre 330 y 350 mg

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Tabla 1. *Diseño de mezcla para la formulación de cápsulas duras de licopeno*

BLOQUE	Aerosil® (mg)	Sodio almidón glicolato (mg)	Celulosa microcristalina (mg)	IFA (mg)
1	8	12	50	330
1	4	20	46	330
1	8	20	42	330
1	8	20	22	350
1	4	12	54	330
1	4	12	34	350
1	8	12	30	350
1	4	20	26	350
1	8	12	50	330
1	4	20	46	330
2	8,0	12,0	50,0	330,0
2	4,0	20,0	46,0	330,0
2	8,0	20,0	42,0	330,0
2	8,0	20,0	22,0	350,0
2	4,0	12,0	54,0	330,0
2	4,0	12,0	34,0	350,0
2	8,0	12,0	30,0	350,0
2	4,0	20,0	26,0	350,0
2	8,0	12,0	50,0	330,0
2	4,0	20,0	46,0	330,0
3	8,0	12,0	50,0	330,0
3	4,0	20,0	46,0	330,0
3	8,0	20,0	42,0	330,0
3	8,0	20,0	22,0	350,0
3	4,0	12,0	54,0	330,0

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3	4,0	12,0	34,0	350,0
3	8,0	12,0	30,0	350,0
3	4,0	20,0	26,0	350,0
3	8,0	12,0	50,0	330,0
3	4,0	20,0	46,0	330,0

3.7 Procesamiento de la información y análisis estadístico:

El procesamiento de la información se realizó utilizando el software statgraphics centurión versión 16.1.

3.8 Variables respuesta o resultados alcanzados

3.8.1 Eficiencia de Extracción

Se determinó a través de la relación entre la masa de licopenos extraída (ML) y la masa de material vegetal (MV) utilizado, expresado en la ecuación 1 (I. F. Strati & Oreopoulou, 2011).

$$\%EE = \left(\frac{ML}{MV} \right) \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de eficiencia de extracción

Donde:

ML = masa de licopenos extraída

MV = masa del material vegetal

3.8.2 Concentración de Licopeno

Los extractos de cada lote, se mezclaron en un agitador magnético y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el sobrenadante. El sobrenadante se filtró a través de papel filtro. Posteriormente se midió el contenido de carotenoides del sobrenadante y se midió espectrofotométricamente a una longitud de onda de 472 nm, el equipo que se utilizó fue un espectrofotómetro Fisher Scientific accuSkan GO. La ecuación



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

que para calcular la concentración de carotenoides en mgL^{-1} expresado en licopeno fue:

$$C = \frac{A \times 10^4}{E}$$

Ecuación 2. Concentración de Licopeno

Donde:

A = absorbancia del extracto a 472nm

E = es el coeficiente de absorción de licopeno (absorbancia a la longitud de onda máxima de una solución al 1% en una cubeta de espectrofotómetro con paso de luz de 1 cm) en el etanol utilizado. Obteniendo un coeficiente de absorción de licopeno de 3950 a 472 nm (I. Strati & Oreopoulou, 2011).

3.8.3 Eficiencia de microencapsulación

Se realizó una dilución de cada uno de los lotes del microencapsulado tanto en agua (1:1) como en etanol al 96 % (1:2), posteriormente estas soluciones se agitaron durante un tiempo de 15 minutos, se filtraron y se midió su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 472 nm. La eficiencia se midió mediante la relación entre la concentración de licopenos presentes en el interior de las microcápsulas y en la superficie, que se obtuvo al diluir el microencapsulado en etanol y en agua respectivamente (Pérez & Fernández, 2019).

Ecuación 3. Eficiencia de microencapsulación

$$E.M = \frac{CA \text{ agua} - CE \text{ etanol}}{CA \text{ agua}} \times 100$$

Donde:

$CA \text{ agua}$ = Concentración de licopeno en agua

$CE \text{ etanol}$ = Concentración de licopeno en etanol

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

3.8.3 Determinación del pH

A las muestras del extracto, se les determinó el pH por triplicado empleando un pH-metro (Thermo Scientific ORION VERSASTAR)

3.8.4 Determinación de índice de refracción

A las muestras del extracto se les determinó el índice de refracción por triplicado en un refractómetro Abbe Nar 2T a una temperatura de 17 °C, calibrando el equipo primero con agua destilada a un índice de refracción de 1,3332 (Cromer & Fernández, 1998)

3.8.5 Determinación de viscosidad

A las muestras del extracto se les midió la viscosidad dinámica por triplicado en un viscosímetro Quimis, las muestras fueron tomadas a 20 °C y el valor obtenido fue expresado en (mPa·s).

3.8.6 Determinación de humedad

A las muestras del microencapsulado, se les determinó por triplicado la humedad, empleando una balanza Citizen MB 50, colocando una muestra de 5 g en el plato. El resultado obtenido fue expresado en porcentaje.

3.8.7 Espectroscopía Infrarroja de la transformada de Fourier

Se comparó la mezcla de los tres extractos con cada uno de los lotes del microencapsulado en un intervalo entre 500 y 4000 cm^{-1} , el equipo que se usó fue un FTIR espectrofotómetro y el software usado para el análisis fue Perkin Elmer Spectrum Two.

3.8.8 Morfología de las microcápsulas

Se estudió la morfología de las microcápsulas obtenidas, utilizando un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) modelo Tescan Vega3 con aumento hasta 100000X. Las muestras de 3 lotes de licopeno microencapsulado se prepararon y fijaron sobre una cinta de carbono de doble faz, al ser un material orgánico se recubrieron con una fina capa de oro utilizando un dispositivo de recubrimiento por pulverización catódica SPI-

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Module proceso necesario para que la muestra a ser analizada sea conductora de los electrones que emergen de la fuente de tungsteno del equipo. La obtención de las imágenes se realizó con una energía de 8,0 a 10,0 keV, en alto vacío con el detector de Electrones Secundarios.

3.8.9 Actividad antioxidante *in vivo*

Se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 como modelo de estudio, partiendo de un repique de una cepa de reserva, para lo cual primeramente se aisló en un medio de extracto de levadura peptona dextrosa, mediante siembra en estría, durante 5 días a una temperatura de 28 °C.

Posteriormente se inoculó una colonia de *Saccharommyces cerevisiae* en 5 ml de caldo de extracto de levadura peptona y dextrosa incubándola a 28 °C durante 24 horas.

Al siguiente día se tomaron 5 µL de esa solución y se colocaron en 3 ml de caldo de extracto de levadura peptona y dextrosa, considerando ésta como solución estándar para todos los tubos.

Se preparó una solución de peróxido de hidrógeno 0,5 mmol/l y de 5 mmol/l, además de soluciones de los microencapsulados de 25 mg de cada lote en 1 ml.

También se preparó una solución de vitamina C, con 25 mg en 1 ml (control positivo)

En cada tubo se fue añadiendo la solución estándar y 1 ml de las soluciones preparadas, dejando un tubo únicamente con la solución estándar (denominado tubo control)

Estas soluciones fueron llevadas a incubación durante 18 horas a 28 °C.

Al siguiente día se centrifugaron a 2700 min⁻¹ durante 10 min, luego se eliminó el sobrenadante, quedándose con la levadura precipitada, la cual fue lavada con una solución buffer fosfato salino de pH 7,2, midiendo la absorbancia en cada tubo y ajustando la absorbancia a 600 nm.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Posteriormente en cada tubo se añadieron las soluciones de peróxido de hidrógeno 0,5 mmol/l y 5 mmol/l, a excepción del tubo control.

Nuevamente se centrifugó a 2700 min⁻¹ durante 10 minutos, eliminando la parte acuosa y recuperando únicamente el precipitado que es *Saccharomyces cerevisiae*, se realizó un lavado con solución de buffer fosfato salino, luego se añadió a cada tubo 3 ml de caldo de extracto de levadura peptona y dextrosa. Finalmente en la placa de 96 pocillos se tomaron 250 µL de cada una de las soluciones y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro Fisher Scientific accuSkan GO a 30 °C durante 18 horas, las mediciones se realizaron por triplicado, registrando la absorbancia cada 20 minutos (Calle & López, 2020; Peláez & Montoya, 2016).

3.8.10 Actividad antioxidante *in vitro*

Se utilizó el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido como DPPH (Bobo-García et al., 2015).

El cual consistió en preparar una solución madre de 500x10⁻⁶ mol⁻¹ de trolox (para lo que se disolvió 0,0129 g de trolox en 50 ml de etanol al 96 % y 50 ml de agua destilada).

Posteriormente se realizaron varias diluciones a partir de la solución madre, obteniendo estándares de: 50 µmol/l (1 ml de la solución madre en 9 ml de mezcla etanol-agua 50:50) 100 µmol/l (2 ml de la solución madre en 8 ml de mezcla etanol-agua 50:50) 200 µmol/l (4 ml de la solución madre en 6 ml de mezcla etanol-agua 50:50) 300 µmol/l (6 ml de la solución madre en 4 ml de mezcla etanol-agua 50:50) 400 µmol/l (8 ml de la solución madre en 2 ml de mezcla etanol-agua 50:50) 500 µmol/l (10 ml de la solución madre de trolox. Estas soluciones se protegieron de la luz y del calor.

También se preparó una solución de 150x10⁻⁶ mol⁻¹ de DPPH (para lo que se disolvió 0,0059 g de DPPH en 80 ml de metanol al 99,8 % en 20 ml de agua destilada, agitándolo durante 20 minutos a 130 min⁻¹), también se protegió esta solución de la luz y del calor.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Adicional se realizó una dilución de los tres lotes de microencapsulado en polvo 1/200 en una solución de agua-etanol 50:50.

Luego se realizó una dilución 1/200 de los tres lotes del concentrado del extracto en una solución de agua -etanol 50:50.

Posteriormente se colocó en la placa de 96 pocillos, 20 μl de cada una de las soluciones preparadas con 180 μl de la solución de $150 \times 10^{-6} \text{mol l}^{-1}$ de DPPH. Denominándose A_m (absorbancia de la muestra).

También se colocó en la misma placa de 96 pocillos 20 μl de la solución agua-etanol 50:50 con 180 μl de la solución de $150 \times 10^{-6} \text{mol l}^{-1}$ de DPPH. Denominándose A_c (absorbancia control).

En la misma placa de 96 pocillos se colocaron 20 μl de agua con 180 μl de metanol. Denominándose A_b (absorbancia del blanco como reactivos).

Se llevó la placa al espectrofotómetro Fisher Scientific accuSkan GO, incubándole durante 40 min a temperatura ambiente y leyendo su absorbancia de 515 nm.

Con los resultados obtenidos, se calculó el porcentaje de inhibición del DPPH, establecidos mediante la ecuación 4.

Ecuación 4. Porcentaje de inhibición del DPPH

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

Donde:

A_m = absorbancia de la muestra

A_b = absorbancia del blanco como reactivo

A_c = absorbancia control

Finalmente se realizó una gráfica con las distintas concentraciones de trolox y el porcentaje de inhibición de las muestras analizadas, obteniendo una ecuación de regresión lineal.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

3.8.11 Peso de la formulación de cada cápsula.

Se realizaron al menos 10 repeticiones del peso de cada cápsula de acuerdo a la formulación establecida en la tabla 1. Los pesos se tomaron en una balanza analítica Adventurer-Pro OHAUS.

3.8.12 Tiempo de desintegración

Se midió el tiempo de desintegración de acuerdo al método de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), se prepararon soluciones 0,1 mol/l de ácido clorhídrico, verificando que el pH esté en 1,2, posteriormente esta solución se calentó a 37 °C.

Se colocó la cápsula con la formulación establecida en 500 ml de la solución anteriormente preparada, con una agitación de 50 min⁻¹, utilizando el equipo de fluctation tester JLT4, observando visualmente el tiempo que tarda en desintegrarse la cápsula (Glube et al., 2013). Este procedimiento se realizó con cada una de las formulaciones especificadas en la tabla 1.

3.8.10 Índice de Hausner

Es un valor que está correlacionado con la fluidez del polvo, esta medición se realizó midiendo el peso de cada formulación en la balanza analítica Adventurer-Pro OHAUS y el volumen inicial y final del polvo luego de 150 golpes. Para el índice de Hausner se aplicó la ecuación 5:

Ecuación 5. Índice de Hausner

$$\text{Indice de Hausner} = \left[\frac{\rho \text{ asentamiento}}{\rho \text{ vertido}} \right]$$

Donde:

$\rho \text{ vertido}$ = densidad de vertido = masa/ volumen inicial

$\rho \text{ asentamiento}$ = densidad asentamiento = masa/ volumen final después de 150 golpes.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

La interpretación del índice de Hausner (Razuc et al., 2019) es:

- 1,00 a 1,11 excelente
- 1,12 a 1,18 bueno
- 1,19 a 1,25 favorable
- 1,26 a 1,34 aceptable
- 1,35 a 1,45 malo

3.8.10 Índice de Carr

Para el índice de Carr se aplicó la ecuación 6.

Ecuación 6. Índice de Carr

$$\text{Índice de Carr} = \left[\frac{(\rho_{\text{asentamiento}} - \rho_{\text{vertido}})}{\rho_{\text{asentamiento}}} \right]$$

Donde:

ρ_{vertido} = densidad de vertido = masa/ volumen inicial

$\rho_{\text{asentamiento}}$ = densidad asentamiento = masa/ volumen final después de 150 golpes.

La interpretación del índice de Carr (Razuc et al., 2019) es:

- Menor a 10 flujo excelente
- 11-15 bueno
- 16-20 favorable
- 21-25 aceptable
- 26-31 malo

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Eficiencia de extracción

En la tabla 2 se presentan los resultados de la eficiencia de extracción del licopeno, para los 3 lotes obtenidos a partir de las cáscaras de tomate de árbol.

Tabla 2. *Eficiencia de Extracción de Licopeno*

Lote	Eficiencia de Extracción (mg/kg)
1	48,90
2	31,10
3	27,08

Los resultados de eficiencia de extracción muestran un promedio de 35,69 mg/kg a partir de cáscara de tomate de árbol, estudios a nivel de banco indican que se obtiene una eficiencia de 34,34 mg/kg (Urbina et al., 2020) obteniendo similares resultados de eficiencia de extracción de licopeno tanto a nivel banco como a nivel industrial.

Otros estudios muestran una eficiencia de extracción de 559,9 mg de licopeno/kg de pulpa de tomate (Cardona, Ríos, & Restrepo, 2006), este valor más alto se debe a la composición misma de la cáscara la cual contiene menor cantidad de licopeno en comparación con la pulpa de tomate de árbol. En otras investigaciones se encontró una eficiencia de extracción de 12,2 mg/kg (Candelas et al., 2006) en cáscaras de tomate de árbol obteniendo una menor eficiencia con respecto a nuestros resultados, lo cual indica que la eficiencia de extracción también está relacionada con la variedad de la fruta, época de cosecha, estado de madurez y condiciones de manejo del equipo. El estado de madurez influye decisivamente en la composición de carotenoides, existen mayores niveles de carotenoides cuando han sido expuestos en mayor tiempo a la luz del sol y a elevadas temperaturas (Cardona et al., 2006). En lo que se refiere a condiciones de manejo influyen muchísimo el disolvente utilizado y las condiciones de temperatura a la que se realiza la extracción, obteniendo resultados favorables a 50 °C y con etanol al 96 %.

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

4.2 Rendimiento y concentración de los lotes microencapsulados

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en los lotes 1, 2 y 3 para la concentración del licopeno expresada en (mg/kg) y la eficiencia de microencapsulación en porcentaje.

Tabla 3. *Concentración de licopeno y eficiencia de microencapsulación*

Lote	Concentración de Licopeno (mg/kg)	Eficiencia de microencapsulación (%)
1	43,78	93,61
2	45,20	90,44
3	43,22	97,78

En esta escala se obtuvo un promedio de concentración de licopeno de 44,07 mg/kg, que comparando con estudios realizados a nivel de banco, en las mismas condiciones, se obtuvo una concentración de licopeno inferior de 42,96 mg/kg (Martínez-Valverde et al., 2020)

En lo que se refiere a la eficiencia de microencapsulación (tabla 3), se obtuvo una eficiencia de microencapsulación superior al 90 %, por lo que se considera una eficiencia adecuada, estudios demuestran que la microencapsulación es buena cuando se alcanza una máxima cantidad del material a encapsular dentro de las partículas de polvo, una buena estabilidad de las microcápsulas y prevención de la pérdida de compuestos volátiles (González & Martínez, 2015). Estudios a nivel de laboratorio indican una eficiencia de microencapsulación del 84 % (Perez & Fernandez, 2019) demostrando que el uso de los polímeros goma arábica y maltodextrina son eficientes para la microencapsulación.

4.3 pH, índice de refracción y viscosidad del extracto líquido

En la tabla 4 se muestran los resultados del pH, índice de refracción y viscosidad del extracto líquido obtenido a partir de las cáscaras de tomate de los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Tabla 4. *pH, índice de refracción y viscosidad del extracto líquido*

Lote	pH	Índice de Refracción	Viscosidad (mPa·s)
1	5,37±0,01	1,44±0,001	112,40±0,361
2	5,65±,0,02	1,41±0,001	110,37±0,379
3	5,59±,0,07	1,41±0,002	114,50±0,346

Se obtuvo una viscosidad del extracto líquido promedio de 112,42 mPa·s a 20 °C, estudios con extracto de semilla de mango muestran viscosidades de extractos desde 48 – 115 cP, que es equivalente a mPa·s (Maisuthisakul & Gordon, 2012) encontrándose el valor de viscosidad dentro de este intervalo.

El pH del extracto líquido obtenido fue de 5,54 a 20 °C, obteniendo un pH ácido, el cual fue influenciado por las características del disolvente, que en este caso fue el etanol. Estudios muestran un pH del extracto de licopeno de 4,68 usando como disolvente ácidos grasos (Delgado & Mallama, 2019). Demostrando así que el pH del extracto tiene una relación directa con el tipo de disolvente que se utiliza en la extracción.

Comparando los resultados obtenidos a nivel industrial con los obtenidos a nivel de laboratorio se encuentran valores similares, obteniendo a nivel de laboratorio un pH desde 5,58 hasta 5,68 (Urbina, 2019).

El índice de refracción del extracto líquido muestra un promedio de 1,42 a 15 °C, mientras que estudios a nivel de banco muestran para el extracto de licopeno un índice de refracción de 1,363 (Urbina, 2019); variando un poco el resultado por la temperatura a la que se realizó la medición. El índice de refracción tiene una correlación con la concentración de sólidos y el disolvente, que en este caso fue etanol al 95 %, demostrando así las propiedades activas y la calidad del extracto obtenido (Zhao et al., 2021).

4.4 Humedad del microencapsulado

La tabla 5 se muestra el porcentaje de humedad de los microencapsulados obtenidos para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

Tabla 5. *Porcentaje de humedad del microencapsulado*

Lote	Humedad(%)
1	6,33±0,54
2	6,62±,0,36
3	5,89±,0,40

La humedad de los microencapsulados en polvo fue aproximadamente de 6,15 %, al comparar con la normativa Ecuatoriana, normas INEN 616 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2015), se encuentra dentro del valor aceptable de humedad, pues la norma permite un porcentaje máximo de humedad del 14 % y en la farmacopea de los Estados Unidos un máximo del 10 % (Pharmacopoeia of United States USP, 2018). El parámetro de humedad es un indicativo de la vida útil del producto, mientras menor es la humedad menor riesgo tiene de contaminación microbiana, evitando así degradaciones químicas y biológicas (Esquivel-González et al., 2015). Lo que demuestra que el secado por aspersión es un método eficiente para reducir el contenido de agua de los microencapsulados.

4.5 Espectroscopía infrarroja de la transformada de Fourier

En la figura 1 se muestra el resultado de la espectroscopia infrarroja de los microencapsulados (lotes 1,2 y 3), además de un extracto líquido antes de realizar el proceso de microencapsulación y la mezcla de polímeros empleados para la microencapsulación.

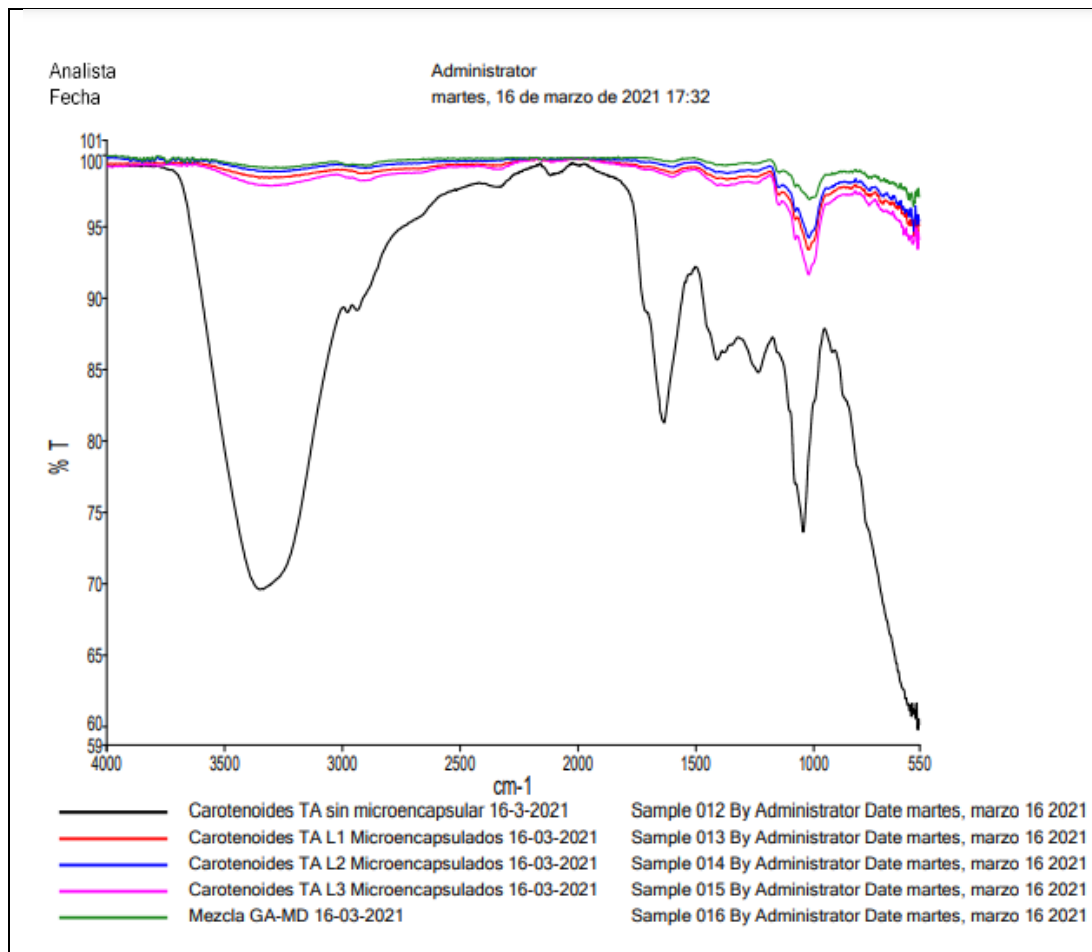


Figura 1 *Espectroscopía infrarroja de la transformada de Fourier de los microencapsulados de licopeno*

En lo que respecta a la espectroscopia infrarroja de la transformada de Fourier, la banda alrededor de 1000 cm^{-1} indica en los microencapsulados que el licopeno está enmascarado por la mezcla polimérica, lo que demuestra la efectividad del proceso de microencapsulación, estudios similares muestran la presencia de licopeno en bandas entre los 850 cm^{-1} y hasta los 1200 cm^{-1} , mientras mayor es la intensidad de la banda, mayor será el contenido de licopeno libre, siendo los espectros de la transformada de Fourier importantes características de absorción en la región de huellas dactilares con bandas de absorción debidas a vibraciones de deformación carbono-oxígeno (Bunghez et al., 2011). Esta banda característica también demuestra que existe presencia de licopeno en el interior de las microcápsulas.

4.6 Morfología y aspecto de la superficie de las microcápsulas

En la figura 2 se muestran las fotos de microscopía de barrido electrónico de las microcápsulas de los tres lotes obtenidos.

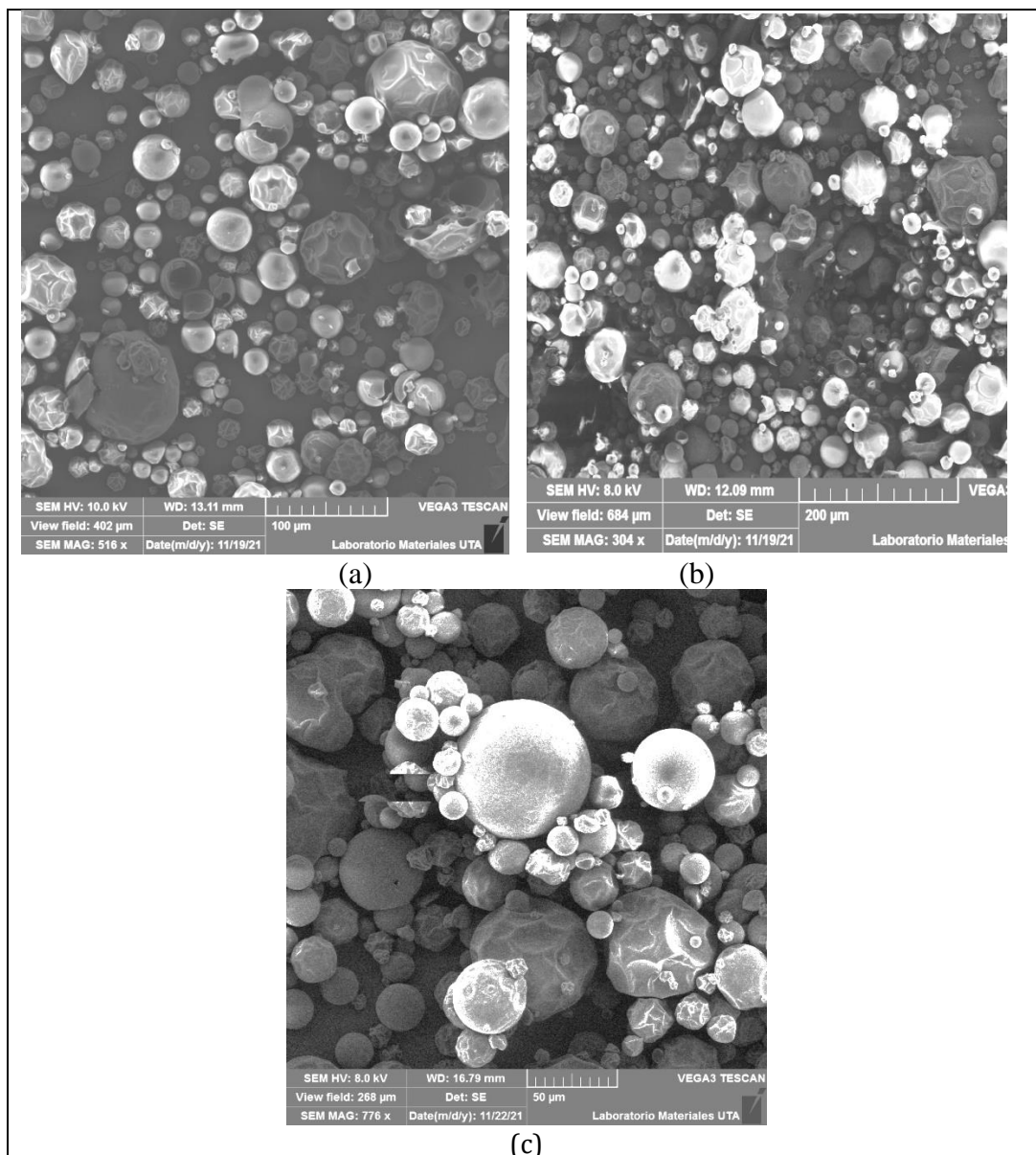


Figura 2. Fotos de Microscopía de barrido electrónico de los microencapsulados de licopeno (a) Lote 1 con aumento de 516X, (b) Lote 2 con un aumento de 304X y (c) Lote 3 con aumento de 776X

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Las microcápsulas formadas en los 3 lotes, tienen una morfología similar, siendo esféricas las partículas, presentan una superficie exterior redondeada con la formación de dientes o concavidades poco homogéneas.

La aparición de dientes en la superficie, Rosenberg y colaboradores reportaron que se atribuye a la rápida evaporación de gotas de líquido durante el proceso de secado por aspersión (Rosenberg, M., Talmon, Y., Kopelman, 1985) que fue confirmado en otras investigaciones (Buffo et al., 2002; Rosenberg, M., Talmon, Y., Kopelman, 1985). También se puede observar la presencia de esferas con superficie lisa, los tamaños de las microcápsulas son del orden de decenas de micrómetros (10 -70 μm) para su diámetro, lo que concuerda con el intervalo de tamaños que genera el tipo de atomizador empleado.

La figura 3 muestra las fotos de microscopía de barrido electrónico de la superficie de las microcápsulas de los tres lotes obtenidos.

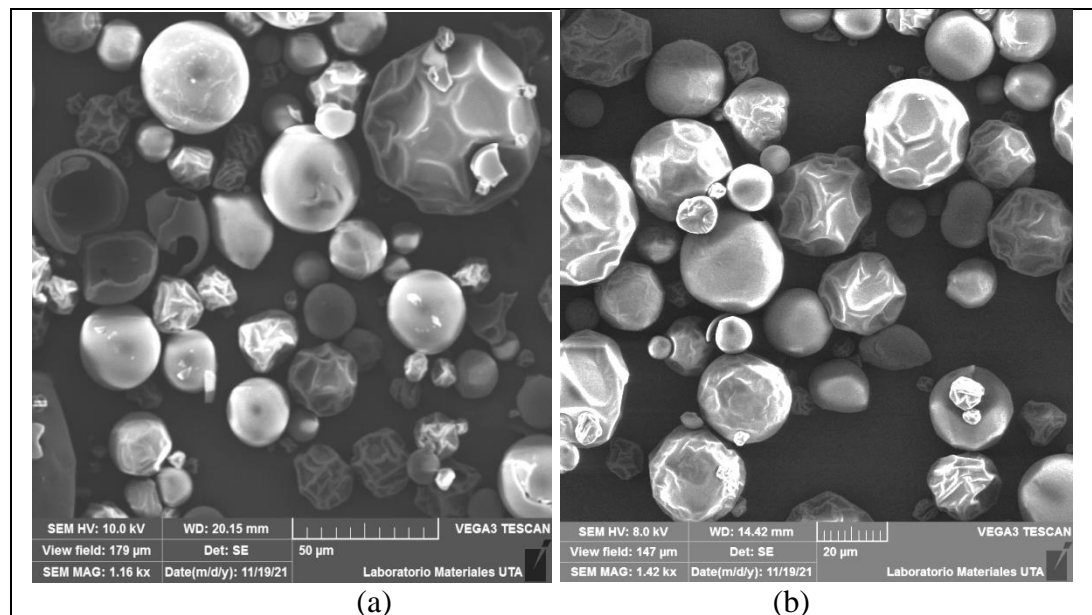


Figura 3. Imágenes de Microscopía de barrido electrónico de los microencapsulados de licopeno (a) Lote 1 con aumento de 516X, (b) Lote 2 con un aumento de 304X

Como se aprecia, las superficies externas de las microcápsulas presentan paredes continuas sin fisuras o grietas (figura 3), lo que garantiza la retención del licopeno.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

En el lado superior izquierdo de la figura 3a se observa una microcápsula fragmentada, donde se evidencia la pared compacta y homogénea generada por el proceso de microencapsulación.

4.6 Actividad antioxidante *in vivo*

La figura 4 muestra el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* durante 18 horas, al ser sometida a los diferentes microencapsulados (lote 1, lote 2 y lote 3), control+(vitamina C) y control-(solo *Saccharomyces cerevisiae*) y peróxido de hidrógeno con una concentración 0,5 mmol/L.

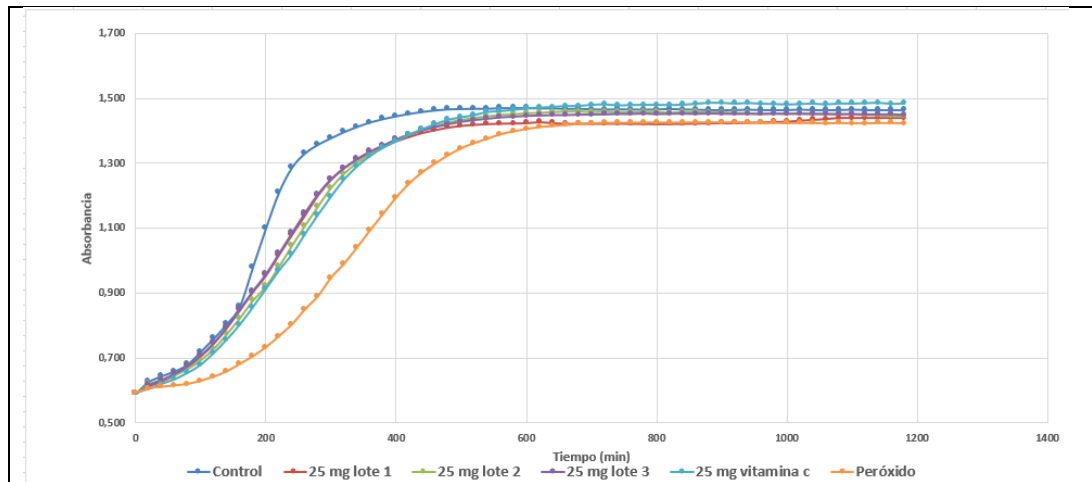


Figura 4. Curva de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* frente al estrés oxidativo de H_2O_2 con una concentración 0,5 mmol/L

En la figura 4, se encuentra que la curva control tuvo un crecimiento más rápido debido a que no estuvo sometida a ningún estrés.

La curva de peróxido, muestra el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* sometida sólo con peróxido de hidrógeno teniendo como resultado el crecimiento más lento de la levadura, debido a que fue sometida al mayor estrés. Encontrando resultados similares en el crecimiento de levadura con peróxido de hidrógeno a una concentración de 0,3 mmol/l (Proaño & Fernández Rivero, 2021), esto se debe a que el peróxido de hidrógeno produce radicales libres de oxígeno, siendo tóxico para las levaduras, produciendo un estrés oxidativo (Folch-Mallol et al., 2004).

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Los tres lotes tuvieron un crecimiento similar entre sí y similar al control de la vitamina C. Este crecimiento fue igual al de la curva control hasta los 160 min, luego el crecimiento de la levadura disminuyó y se demoró hasta alcanzar la fase estacionaria. La vitamina C es un eficaz antioxidante favoreciendo el metabolismo de la levadura (Saffi et al., 2006). Demostrando así que la vitamina C, al igual que los microencapsulados tienen propiedades antioxidantes sobre la levadura.

La curva control alcanzó la fase estacionaria a los 440 min, mientras que las curvas con los tres lotes de microencapsulados de licopeno y vitamina C, alcanzaron la fase estacionaria a los 560 min y finalmente la curva que fue con peróxido de hidrógeno tardó más tiempo, alcanzando la fase estacionaria a los 660 min. Esto demuestra que los microencapsulados tienen capacidad antioxidante, corroborando éstos resultados en licopeno de tomate de árbol (Pazmiño & Rivero Fernández, 2019).

Referente a la fase de adaptación tanto los tratamientos que fueron microencapsulados, como control positivo y negativo tardaron 60 min, pero el tratamiento que fue sometido con peróxido tardó en adaptarse 100 min. La variación con respecto al peróxido de hidrógeno se debe, a que éste genera radicales hidroxilos, lo que produce un estrés oxidativo (Macedo-Marquez, 2012).

En la figura 5, se observa el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* considerando una concentración de peróxido de hidrógeno 5 mmol/l, encontrando en la fase de adaptación de los tres lotes de microencapsulados y control un tiempo de 60 minutos, existiendo variación con respecto al tiempo en la fase de adaptación al tratamiento que fue con peróxido de hidrógeno en donde la levadura tardó en adaptarse 100 min.

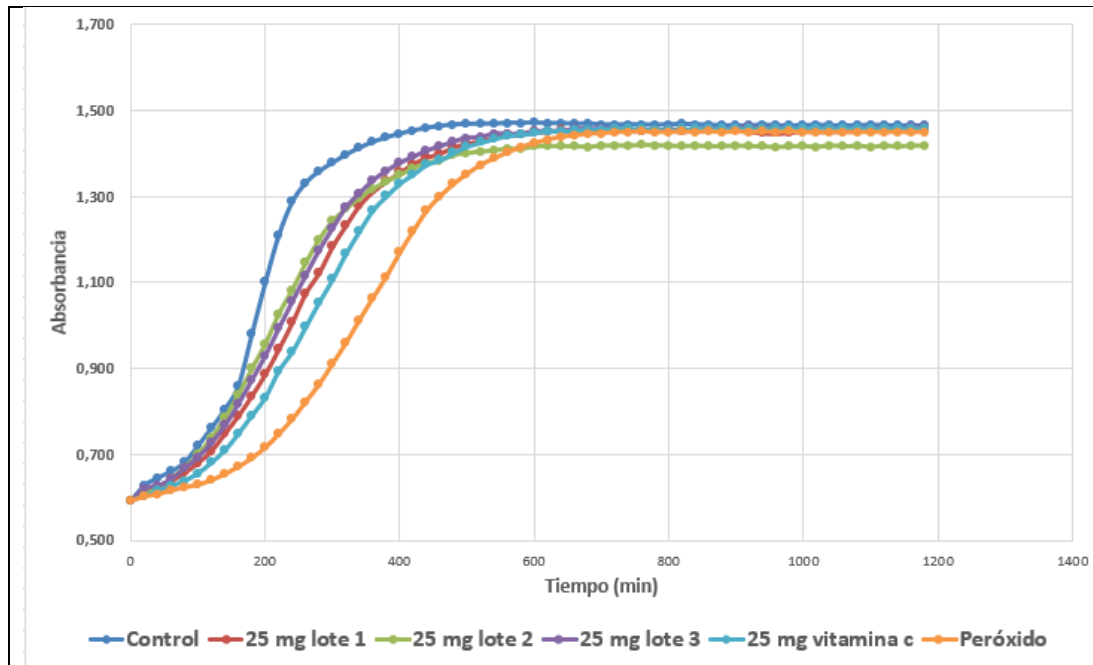


Figura 5. Curva de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* frente al estrés oxidativo de H_2O_2 con una concentración 5 mmol/L

Esta variación se debió a que el peróxido produjo un estrés en las mitocondrias de la levadura (Vargas, 2007). Con respecto a la fase de crecimiento, en el tratamiento control tarda 480 minutos en crecer, en cambio en los tres lotes de microencapsulados y vitamina C, tarda 560 min y con el peróxido de hidrógeno tarda 680 min en crecer. Demostrando así la actividad antioxidante que tienen los microencapsulados sobre la levadura.

Si se comparan los resultados obtenidos en la concentración de peróxido de hidrógeno 0,5 mmol/l con respecto a la gráfica obtenida con una concentración de peróxido de hidrógeno 5 mol/l se concluye que una mayor concentración, influye en el crecimiento de la levadura, necesitando más tiempo para crecer.

4.9 Actividad antioxidante *in vitro*

En la figura 6, se muestra la curva de calibración de Trolox para la determinación de la actividad antioxidante *in vitro* del microencapsulado de licopeno.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

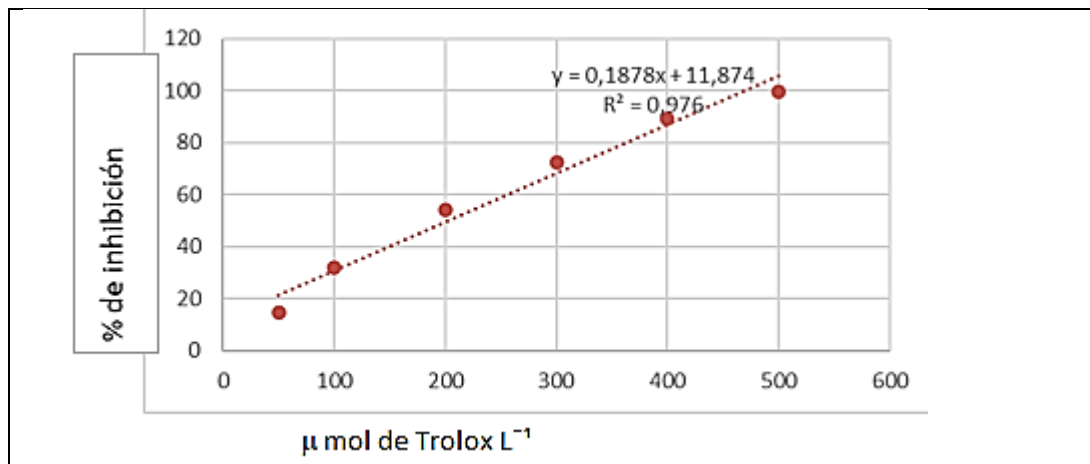


Figura 6. Curva de calibración de Trolox

Se obtuvo un coeficiente de correlación lineal de 0,976, muy cercano a 1, lo que indica que existe una relación directa entre la concentración de trolox y el porcentaje de inhibición.

Para obtener los resultados de inhibición de DPPH, se utilizó la ecuación del porcentaje de inhibición del DPPH, reportada en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de inhibición por DPPH de los lotes de microencapsulado

Lote	% de inhibición	μmol equivalentes de Trolox L ⁻¹
1	48,03	192,50
2	35,07	123,52
3	38,07	139,50

La técnica del DPPH (1,1 difenil-2picril-hidrazilo), se usa para evaluar la capacidad antioxidante de alimentos, este método se fundamenta en que el DPPH es un radical libre que al juntarse con el antioxidante produce una reacción redox de primer orden (Coba et al., 2010; Guija-Poma et al., 2015).

Investigaciones a escala de banco muestran una concentración equivalente a trolox de 142,72 μmol⁻¹ (Urbina et al., 2020) lo que demuestra que la tecnología usada es altamente efectiva, consiguiendo similares resultados con el microencapsulado de licopeno, tanto a escala de banco como a nivel industrial.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

4.10 Diseño de una formulación de cápsulas duras de licopeno microencapsulado con capacidad antioxidante.

La tabla 7 muestra el análisis de varianza para el peso promedio de la formulación de las cápsulas, para un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 7. ANOVA para peso promedio de formulación de cápsulas

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	14840,7	5	2968,14	7,02	0,0004
Lineal					
Error total	10145,2	24	422,716		
Total (corr.)	24985,9	29			

De acuerdo al diseño experimental realizado mostrado en el anexo 1, se encuentra que existen diferencias significativas en el peso de cada una de las formulaciones de las cápsulas, mostrando un coeficiente de regresión lineal del 93,964 %.

La tabla 8 muestra las combinaciones adecuadas de formulación de cápsulas duras en función de obtener el máximo peso promedio de 402,994 mg, siendo el peso óptimo dióxido de silicio coloidal 8 mg, sodio almidón glicolato 12 mg, celulosa 50 mg y de microencapsulado 330 mg.

La función del dióxido de silicio coloidal es absorber gran cantidad de agua, por lo que se le usa como excipiente en la formulación de cápsulas duras (Acofarma, 2021) El sodio almidón glicolato ayuda a una mejor fluidez y tiene una función de superdesintegrante, permitiendo una mejor solubilidad y rápida desintegración (Villafuerte-Robles, 2011).

La celulosa microcristalina, se usa como portador de sabor y color (García García et al., 2006), aumenta la compresibilidad, pero disminuye la fluidez (Villafuerte-Robles, 2011).

En la tabla 8 se muestran los diferentes niveles estudiados de los diferentes componentes, así como los valores óptimos.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

Tabla 8. *Combinaciones adecuadas de cápsulas duras en función del peso*

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Dióxido de silicio coloidal	4,0	8,0	8,0
Sodio almidón glicolato	12,0	20,0	12,0
Celulosa microcristalina	22,0	54,0	50,0
IFA	330,0	350,0	330,0

Los resultados de 8 mg de dióxido de silicio coloidal, 12 mg de sodio almidón glicolato, 50 mg de celulosa microcristalina y 330 mg de microencapsulado de licopeno presentan un índice de Hausner de 1,26 que es aceptable y un índice de Carr de 20,83 que es aceptable, demostrando así que esta formulación tiene un adecuado índice de fluidez.

La tabla 9 muestra el análisis de varianza para el tiempo de desintegración de las cápsulas.

Tabla 9. *ANOVA para tiempo de desintegración de las cápsulas*

Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0,643841	5	0,128768	2,66	0,0473
Lineal					
Error total	1,16095	24	0,0483728		
Total (corr.)	1,80479	29			

La tabla 9 muestra que existen diferencias significativas para un nivel de confianza del 95 % en el tiempo de desintegración de las cápsulas, con un coeficiente de correlación lineal de 97,888 %.

En la tabla 10, se muestra la combinación adecuada de excipientes y microencapsulado de licopeno para obtener un menor tiempo de desintegración,

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

encontrando un tiempo de desintegración de 9,09 min con 8 mg de dióxido de silicio coloidal, 20 mg de sodio almidón glicolato, 22 mg de celulosa y 350 mg de microencapsulado por cápsula.

Tabla 10. *Composición óptima de componentes en función del tiempo de desintegración*

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Aerosil	4,0	8,0	8,0
Sodio almidón glicolato	12,0	20,0	20,0
Celulosa	22,0	54,0	22,0
IFA	330,0	350,0	350,0

Estudios con extracto de té verde, en cápsulas de gelatina dura muestran un tiempo desintegración de 10 min, utilizando como disolvente una solución de ácido clorhídrico 1 mol/l a un pH de 1,2 (Glube et al., 2013).

Existe una relación entre el tiempo de desintegración y la solución que se use como disolvente, además el método a usar va a depender de la farmacopea que rige en cada país. Investigaciones demuestran a un pH de 1,2 el 80 % de las formulaciones, no exceden los 15 minutos (Al-Gousous & Langguth, 2015).

La tabla 11 muestra los valores óptimos deseados, considerando un peso promedio de 412,917 mg y un tiempo de desintegración de 9,09 minutos, siendo la formulación adecuada 8 mg de dióxido de silicio coloidal, 20 mg de sodio almidón glicolato, 22 mg de celulosa y 350 mg de microencapsulado.

Tabla 11. *Combinaciones adecuadas de componentes en función del peso y tiempo de desintegración*

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Dióxido de silicio coloidal	4,0	8,0	8,0
Sodio almidón glicolato	12,0	20,0	20,0
Celulosa	22,0	54,0	22,0
IFA	330,0	350,0	350,0



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

La combinación adecuada para la formulación de cápsulas de licopeno de acuerdo al análisis estadístico, muestra que se recomienda combinar 8 mg de dióxido de silicio coloidal con 20 mg de sodio almidón glicolato, 22 mg de celulosa microcristalina y 350 mg de microencapsulado de licopeno, estudios publicados indican que al consumir después de 8 semanas suplementos con 15 mg de licopeno en forma de cápsulas, reduce el estrés oxidativo de las células (Kim et al., 2011)

CAPÍTULO V CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

5.1. Conclusiones

- Se logró escalar el proceso de extracción de licopeno a partir de los residuos de cáscaras de tomate a nivel industrial, siendo los parámetros de extracción importantes la temperatura y tiempo de secado (50 °C/55 horas) y el disolvente que se usa en la extracción, usando en este trabajo como disolvente etanol al 96 % durante 60 min a 50 °C, obteniendo como resultados una eficiencia de extracción para el lote 1 de 48,90 mg/kg, lote 2 de 31,10 mg/kg y lote 3 de 27,08 mg/kg.
- Se realizó la microencapsulación del extracto de licopeno a nivel industrial, siendo importantes los polímeros que se usan para la microencapsulación que fueron goma arábica y maltodextrina en proporción 50:50 y las condiciones de operación (temperatura de entrada de 120 °C, temperatura de salida 80 °C, carga 30 %), obteniéndose una concentración de licopeno de 43,78 mg/g, 45,20 mg/g y 43,22 mg/g respectivamente para los lotes 1, 2 y 3 y una eficiencia de microencapsulación del 93,61 %, 90,44 % y 96,78 % respectivamente para los tres lotes.
- Se caracterizó fisicoquímicamente el ingrediente bioactivo licopeno, encontrando en el extracto líquido un pH de 5,54 a 20 °C, obteniendo un pH ácido, el cual fue influenciado por las características del disolvente, que en este caso fue el etanol, un índice de refracción de aproximadamente 1,42 el cual tiene una relación directa con la concentración de sólidos y disolvente, una viscosidad de 112,42 mPas, en lo que se refiere al microencapsulado se obtuvo una humedad del 6,15 % la cual es un indicativo de la vida útil del producto, encontrándose acorde a la farmacopea de los Estados Unidos. Con respecto a la espectroscopía infrarroja de la transformada de Fourier, se evidencia que en los microencapsulados el licopeno está protegido por la mezcla polimérica, lo que demuestra la eficiencia del proceso de



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS**

microencapsulación. Finalmente, en el tamaño, morfología y aspecto de las microcápsulas se observaron esferas con superficie lisa con tamaños de microcápsulas del orden de decenas de micrómetros (10 -70 μm) para su diámetro, lo que concuerda con el intervalo de tamaños, que genera el tipo de atomizador empleado.

- Se evaluó la capacidad antioxidante *in vivo* de los microencapsulados, en *Saccharomyces cerevisiae*, demostrando que tienen una actividad antioxidante similar a la de la vitamina C. También se evaluó la capacidad antioxidante *in vitro* mediante el método del DPPH, encontrando un equivalente de trolox de 192,50 μmol^{-1} , 123,53 μmol^{-1} y 139,51 μmol^{-1} en los lotes 1, 2 y 3 respectivamente con un porcentaje de inhibición del 48,03 %, 35,07 % y 38,07 % en los 3 lotes respectivamente.
- Se diseñó una formulación en cápsulas duras de gelatina formato cero de licopeno microencapsulado con capacidad antioxidante, encontrando la mejor composición con 8 mg de dióxido de silicio coloidal, 20 mg de sodio almidón glicolato, 22 mg de celulosa microcristalina y 350 mg de microencapsulado, alcanzándose un peso promedio por cápsulas de 412,92 mg y un tiempo de desintegración de 9,09 minutos.

5.2. Recomendaciones

- Realizar un estudio de comparación del contenido de licopeno en función de la variedad del tomate de árbol.
- Realizar un estudio de estabilidad en tiempo real para determinar el tiempo de vida útil del microencapsulado y de las cápsulas en el material de envase primario que se diseñe para cada producto.

5.3. Bibliografía

- Acofarma. (2021). *Fichas de información técnica*.
- Al-Gousous, J., & Langguth, P. (2015). Oral Solid Dosage Form Disintegration Testing - The Forgotten Test. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(9), 2664-2675. <https://doi.org/10.1002/jps.24303>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204-209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Buffo, R. A., Probst, K., Zehentbauer, G., Luo, Z., & Reineccius, G. A. (2002). Effects of agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4), 292-299. <https://doi.org/10.1002/ffj.1098>
- Bunghez, I. R., Raduly, M., Doncea, S., Aksahin, I., & Ion, R. M. (2011). Lycopene determination in tomatoes by different spectral techniques (UV-VIS, FTIR and HPLC). *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 6(3), 1349-1356.
- Calle, D., & López, D. (2020). *Extracción y microencapsulación de carotenoides de chonta (Bactris gasipaes)*. Técnica de Ambato.
- Candelas, M., Alanis, M., & Río, F. (2006). Lycopene measurement and other carotenoids in tomato and tomato powder . *Revista Mexicana de Agronegocios*, X(19), 1-13.
- Cardona, E., & Rios, L. (2006). Extraction of the carotenoid lycopene from chonto tomato (*lycopersicum esculentum*). *Vitae*, 13(53), 44-53.
- Cardona, E., Ríos, L., & Restrepo, G. (2006). Extraction of the carotenoid lycopene from chonto tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Vitae*, 13(2), 44-53.
- Coba, P., Mayacu-Tivi, L., & Vidari, G. (2010). Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*. *La Granja. Revista de Ciencias de la vida*, 11(1), 22-30.
- Cromer, A. H., & Fernández, J. (1998). *Física en la ciencia y en la industria*. Reverté.
- Delgado, L., & Mallama, C. (2019). Evaluación del extracto de licopeno partiendo de residuos de diferentes frutas y hortalizas, aplicado en un producto cosmético. En *Fundación Universidad de América* (Vol. 8, Número 5).
- Esquivel-González, B., Martínez-L, O., & Rutiaga-Quiñones, O. (2015). Microencapsulación

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

- mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 180-192. <https://doi.org/10.5944/educxx1.14.2.234>
- Folch-Mallol, L., Garay-Arroyo, J., Lledías, A., & Covarrubias Robles, F. (2004). La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista latinoamericana de microbiología*, 46(2), 24-45.
- García García, L., Bordallo López, E., & Cordero Fernández, D. (2006). Celulosa microcristalina. *Revista Cubana de Química*, 18(1), 115-117.
- Glube, N., Von Moos, L., & Duchateau, G. (2013). Capsule shell material impacts the in vitro disintegration and dissolution behaviour of a green tea extract. *Results in Pharma Sciences*, 3, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.rinphs.2013.08.002>
- González, E., & Martínez, O. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 162(2), 180-192.
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1), 57-60. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2015.v15n1.08>
- Kim, J. Y., Paik, J. K., Kim, O. Y., Park, H. W., Lee, J. H., Jang, Y., & Lee, J. H. (2011). Effects of lycopene supplementation on oxidative stress and markers of endothelial function in healthy men. *Atherosclerosis*, 215(1), 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2010.11.036>
- Lorenzo Fuentes, J. (2019). Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores frente al daño en el ADN producido por la radiación ultravioleta. *Ciencias de la Tierra*, 43(168), 550-562.
- Macedo-Marquez, A. (2012). Tip Revista Especializada en Ciencias. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(2), 97-103.
- Maisuthisakul, P., & Gordon, M. H. (2012). Influence of polysaccharides and storage during processing on the properties of mango seed kernel extract (microencapsulation). *Food Chemistry*, 134(3), 1453-1460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.054>
- Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho Vidal, M., & José Martínez Lahuerta, J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12(2), 64-68. [https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Martínez-Valverde, I., Periago, M., Provan, G., & Chesson, A. (2020). Phenolic compounds,

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

- lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 323-330. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.1035>
- Instituto Ecuatoriano de Normalizacion, Instituto Ecuatoriano de Normalización 21 (2015).
- Pazmiño, D., & Rivero Fernández, D. (2019). *Evaluación de diferentes combinaciones de polímeros en la microencapsulación de licopeno de tomate de árbol (Solanum betaceum)*. Universidad Técnica de Ambato.
- Peláez, P., & Montoya, P. (2016). *Validación funcional de extractos polifenólicos de cacao mediante ensayos in vivo con organismos modelo*. (Tesis Doctoral) Universidad de Valencia.
- Perez, C., & Fernandez, D. (2019). *Extracción y microencapsulación de licopenos provenientes de residuos agroindustriales del tomate de árbol (Solanum betaceum)*. Tesis de pregrado (Universidad Técnica de Ambato).
- Pérez, C., & Fernández, D. (2019). *Extracción y microencapsulación de licopenos provenientes de residuos agroindustriales del tomate de árbol (Solanum betaceum)*. (tesis de pregrado) Universidad Técnica de Ambato.
- Periago, M. J., Martínez-valverde, I., & Ros, G. (2001). Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *Ant. Vet*, 66, 51-66.
- Pharmacopoeia of United States USP, N. (2018). *Reference Standards of Dietary Supplements and Herbal Medicines*.
- Proaño, J., & Fernández Rivero, D. (2021). *Extracción asistida por ultrasonido de licopenos provenientes de residuos agroindustriales de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) con capacidad antioxidante*. Universidad Técnica de Ambato.
- Razuc, M., Natalini, P., Chanampa, L., González, A., Calcagno, A., & Gallo, L. (2019). Tecnología farmacéutica, diseño y preparación de formulaciones. En *Colección Ciencias y tecnología* (Primera). Universidad Nacional del Sur.
- Reyna, M., Bojórquez, C., González, J., & Sánchez, P. (2013). Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutricion Hospitalaria*, 28(1), 6-15. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6302>
- Rosenberg, M., Talmon, Y., Kopelman, I. J. (1985). A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Food Sci.*, 50, 139-144.
- Saffi, J., Sonogo, L., Varela, Q. D., & Salvador, M. (2006). Antioxidant activity of L-ascorbic acid in wild-type and superoxide dismutase deficient strains of *Saccharomyces*

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

- cerevisiae. *Redox Report*, 11(4), 179-184. <https://doi.org/10.1179/135100006X116691>
- Salazar-lugo, R., Barahona, A., Ortiz, K., Chávez, C., & Freire, P. (2016). Efecto del consumo de jugo de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) sobre el perfil lipídico y las concentraciones de glucosa en adultos con hiperlipidemia , Ecuador . *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 66(1), 121-127.
- Serry Ku, M., Qinghong, L., Weiyi, L., & Yansong, C. (2010). Performance Qualification of a New Hypromellose Capsule. *International Journal of Pharmaceutics*, 386, 30-41.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2011). Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(1), 23-29.
- Strati, I., & Oreopoulou, V. (2011). Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chemistry*, 129(3), 747-752. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.015>
- Urbina, W. (2019). Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). En *Universidad Técnica de Ambato*. Universidad Técnica de Ambato.
- Urbina, W., Fernández, D., López, O., & Iraizoz, A. (2020). Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Revista Bionatura*, 5(4), 1356-1362. <https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.04.13>
- Vargas, V. (2007). *Avances en Química Universidad de los Andes*. 2(2), 3-15.
- Villafuerte-Robles, L. (2011). Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 2(1), 18-36.
- Waliszewski, K. N., & Blasco, G. (2010). Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Pública de México*, 52(3), 254-265.
- Zhao, H., Fei, X., Liang, C., Xian, Z., Cao, L., & Yang, T. (2021). The evaluation and selection of core materials for microencapsulation: A case study with fragrances. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(6), 652-661.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
CENTRO DE POSGRADOS

5.4. Anexos

Anexo 1. Resultados de formulación de cápsulas duras de licopeno

BLOQUE	Dióxido de silicio coloidal (mg)	Sodio almidón glicolato (mg)	Celulosa microcristalina (mg)	IFA (mg)	Tiempo desintegración n (min)	Peso promedio (mg)
1	8,0	12,0	50,0	330	9,10	386
1	4,0	20,0	46,0	330	9,43	446
1	8,0	20,0	42,0	330	9,28	395
1	8,0	20,0	22,0	350	9,20	393
1	4,0	12,0	54,0	330	10,48	410
1	4,0	12,0	34,0	350	9,56	430
1	8,0	12,0	30,0	350	9,37	428
1	4,0	20,0	26,0	350	9,20	457
1	8,0	12,0	50,0	330	9,22	433
1	4,0	20,0	46,0	330	9,43	446
2	8,0	12,0	50,0	330,0	9,21	394
2	4,0	20,0	46,0	330,0	9,40	476
2	8,0	20,0	42,0	330,0	9,31	417
2	8,0	20,0	22,0	350,0	9,18	412
2	4,0	12,0	54,0	330,0	9,40	436
2	4,0	12,0	34,0	350,0	9,36	455
2	8,0	12,0	30,0	350,0	9,31	445
2	4,0	20,0	26,0	350,0	9,10	457
2	8,0	12,0	50,0	330,0	9,20	445
2	4,0	20,0	46,0	330,0	9,40	476
3	8,0	12,0	50,0	330,0	9,15	377
3	4,0	20,0	46,0	330,0	9,38	416
3	8,0	20,0	42,0	330,0	9,30	372
3	8,0	20,0	22,0	350,0	9,20	375
3	4,0	12,0	54,0	330,0	9,51	384
3	4,0	12,0	34,0	350,0	9,42	406
3	8,0	12,0	30,0	350,0	9,36	411
3	4,0	20,0	26,0	350,0	9,05	443
3	8,0	12,0	50,0	330,0	9,23	421
3	4,0	20,0	46,0	330,0	9,38	416