

**EVALUACIÓN DE LA PASTEURIZACIÓN SOBRE UNA MATRIZ ADICIONADA
CON COMPUESTOS FENÓLICOS MICROENCAPSULADOS OBTENIDOS DE
LA VAINA DE ARVEJA (PISUM SATIVUM L.)**

**DANIEL MAURICIO PATIÑO AGREDA
MILEYDI VANESSA GUEVARA ESPINOSA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIA
SAN JUAN DE PASTO**

2022

**EVALUACIÓN DE LA PASTEURIZACIÓN SOBRE UNA MATRIZ ADICIONADA
CON COMPUESTOS FENÓLICOS MICROENCAPSULADOS OBTENIDOS DE
LA VAINA DE ARVEJA (PISUM SATIVUM L.)**

DANIEL MAURICIO PATIÑO AGREDA

MILEYDI VANESSA GUEVARA ESPINOSA

**Trabajo de grado modalidad investigación para optar por el título de
Ingeniero Agroindustrial**

Director:

Ph.D. OSWALDO OSORIO MORA

Grupo de Investigación:

Grupo de Apoyo a la Investigación y Desarrollo Agroindustrial (GAIDA)

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIA

SAN JUAN DE PASTO

2022

Nota de responsabilidad

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son de responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No. 324 del 11 de octubre de 1966, emanado del honorable consejo directivo de la universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del Tutor de tesis

Firma del jurado

Firma del jurado

San Juan de Pasto, febrero de 2022

Agradecimientos

Universidad de Nariño

Grupo de Investigación Gaida

Laboratorio

Funcionarios Planta Piloto

Ph.D. Oswaldo Osorio por su constante apoyo, asesoría y acompañamiento.

MSc. Laura Latorre por su colaboración y asesoría.

MSc. Yamid Pinchao

MSc. David López

Ph.D. Oscar Arango

A todas las personas que colaboraron en el desarrollo de esta investigación

Dedicatoria

En primer lugar, a Dios por sus infinitas bendiciones, por colmarme con inteligencia, sabiduría y fortaleza para alcanzar este logro, por hacerme sentir siempre amada, sin El nada de esto sería posible.

A mis padres y hermanos por su apoyo y amor incondicional, en especial a mi madre por creer siempre en mí, por su amor, comprensión y motivación constante los cuales me impulsaron a seguir adelante y no desistir, este triunfo es gracias a ti; a mis hermosas sobrinas que son el motor para ser cada día mejor.

A mi madrina y padrino por su cariño y apoyo.

A mi compañero de tesis y de vida Daniel, por decidir acompañarme en este camino arduo, por ser mi apoyo, por brindarme su amor y por tener las palabras correctas en los momentos que sentía decaer, brindándome así la fuerza que necesitaba para continuar, por su cariño, motivación y mimos permanentes que facilitaron este proceso logrando que sea más ameno.

Este trabajo de grado es un éxito que logramos juntos de los muchos que están por venir.

A todas esas bellas personas que Dios puso en mi camino, que de una u otra forma con sus palabras me animaron a seguir adelante.

Vanessa Guevara

Dedicatoria

Agradecido con la vida, por cada momento de aprendizaje y de reflexión por tener la paciencia y la salud para completar esta etapa y más agradecido con una parte de mi corazón Vanessa la cual nunca dejo todo por sacar este proyecto adelante. A todas las personas que pusieron su granito de arena para sacar esta tesis adelante.

Daniel Patiño

Resumen

Actualmente existe un gran interés por el aprovechamiento de residuos agroindustriales para la obtención de compuestos bioactivos tales como los compuestos fenólicos y su incorporación en alimentos y bebidas, sin embargo, estos se ven afectados durante el procesamiento para la obtención del producto final; es por esta razón que se ha hecho recurrente el uso de métodos de protección como es la microencapsulación de compuestos fenólicos para garantizar su conservación al ser agregados en una matriz alimentaria. En esta investigación se evaluó el efecto de la temperatura de pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar de lulo con adición de extracto microencapsulado obtenido de la vaina de arveja. El extracto se obtuvo mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido y presentó una actividad antioxidante de $0,023 \pm 0,001$ mM ET/g.b.s. y un contenido de fenoles totales de $6,050 \pm 0,227$ mg EAG/g.b.s.; posteriormente el extracto fue microencapsulado por la metodología de coacervación compleja obteniendo una eficiencia de encapsulación del 81,2%, fenoles totales de $5,282 \pm 0,233$ mg EAG/g.b.s. y actividad antioxidante de $0,022 \pm 0,001$ mM ET/g.b.s. El extracto encapsulado se incorporó a un néctar de lulo el cual se pasteurizó a 85°C por 30 s (pasteurización suave) y 65°C por 204 s (Pasteurización severa), obteniendo como resultado un aumento del 20% en fenoles totales para el néctar con microcápsulas pasteurizado a 85°C por 30 s. La actividad antioxidante medida por DPPH no se vio afectada por la pasteurización. Se encontró una correlación la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales en el néctar.

Palabras claves: compuestos bioactivos, néctar, extractos vegetales, extracción asistida, ultrasonidos, pasteurización, actividad antioxidante.

Abstract

Currently there is great interest in the use of agro-industrial waste to obtain bioactive compounds such as phenolic compounds and their incorporation into food and beverages, however, these are affected during processing to obtain the final product; It is for this reason that the use of protection methods such as the microencapsulation of phenolic compounds has become recurrent to guarantee their conservation when they are added in a food matrix. In this research, the effect of pasteurization temperature on antioxidant activity and total phenol content of lulo nectar was evaluated with the addition of microencapsulated extract obtained from pea pods. The extract was obtained by means of the ultrasound-assisted extraction technique and has an antioxidant activity of $23.330 \pm 0.889 \mu\text{M TE} / \text{g.b.s.}$ and a total phenol content of $6.050 \pm 0.227 \text{ mg EAG} / \text{g.b.s.}$; Subsequently, the extract was microencapsulated by the complex coacervation methodology, obtaining an encapsulation efficiency of 81.2%, total phenols of $5.282 \pm 0.233 \text{ mg EAG} / \text{g.b.s.}$ and antioxidant activity of $22,780 \pm 0.909 \mu\text{M ET} / \text{g.b.s.}$ The encapsulated extract was incorporated into a lulo nectar which was pasteurized at 85°C for 30 s (soft pasteurization) and 65°C for 204 s (severe pasteurization), obtaining as a result a 20% increase in total phenols for the nectar with microcapsules pasteurized at 85°C for 30 s. The antioxidant activity measured by DPPH was not affected by pasteurization. A correlation was found between the antioxidant activity and the content of total phenols in the nectar..

Keywords: bioactive compounds, nectar, plant extracts, assisted extraction, ultrasound, pasteurization, antioxidant activity.

Contenido

	Pág.
Introducción	17
1. Planteamiento del problema, pregunta de investigación y justificación en términos de necesidad y pertinencia	19
1.1 Descripción de la información	19
2. Marco teórico	21
2.1 Importancia económica de la arveja	21
2.1.1 Subproducto de la arveja.....	21
2.2 Antioxidantes	22
2.3 Compuestos fenólicos	22
2.4 Extracción de compuestos polifenólicos asistida por ultrasonido	24
2.5 Microencapsulación de compuestos bioactivos	26
2.5.1 Microencapsulación por coacervación compleja	27
2.6 Cuantificación de polifenoles totales	28
2.7 Determinación de antioxidantes.....	29
2.7.1 DPPH	30
2.8 Pasteurización	30
2.9 Alimentos enriquecidos	32
2.10 Antecedentes del tema	34
3. Objetivos	41
3.1 Objetivo general.....	41
3.2 Objetivos específicos	41

4. Metodología	42
4.1 Lugar de la investigación y operaciones preliminares	43
4.1.1 Localización	43
4.2 Determinación de la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales del extracto y microencapsulados obtenidos a partir de la vaina de arveja	43
4.2.1 Obtención de las muestras	43
4.2.2 Preparación de las muestras	43
4.2.3 Proceso de extracción de fenoles para la cáscara de arveja deshidratada	44
4.2.4 Contenido de fenoles totales	45
4.2.5 Actividad antioxidante por DPPH	46
4.2.6 Obtención de las microcápsulas por coacervación compleja	47
4.2.7 Análisis de la actividad antioxidante (DPPH) y análisis de fenoles totales	48
4.3 Evaluación del efecto de la pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar de lulo adicionada con extractos de vaina de arveja microencapsulados	49
4.3.1 Proceso de elaboración del néctar	49
4.3.1.1 Pruebas preliminares para establecer el tiempo y la temperatura en el pasteurizador	50
5. Resultados y discusión	53
5.1 Determinación de la actividad antioxidante del extracto y los microencapsulados obtenidos a partir de la vaina de arveja	53
5.1.1 Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante del extracto de vaina de arveja	53

5.1.2. Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante en microencapsulado de extracto de vaina de arveja.....	56
5.2 Evaluación del efecto de la pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar adicionado con extracto de vaina de arveja microencapsulado	58
5.2.1 Análisis estadístico para cuantificación de fenoles.....	58
5.2.2 Análisis estadístico para actividad antioxidante por DPPH.....	65
5.2.3 Cambios en el contenido de fenoles y actividad antioxidante del néctar con compuestos fenólicos microencapsulados durante almacenamiento	68
Conclusiones	71
Recomendaciones	72
Referencias.....	73
ANEXOS	88

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1 Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante en extracto de vaina de arveja	54
Tabla 2 Fenoles totales presentes en diferentes residuos agroindustriales.....	55
Tabla 3 Cuantificación de fenoles totales, actividad antioxidante y porcentaje de eficiencia de encapsulación del microencapsulado de extracto de vaina de arveja	56
Tabla 4 Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales	59
Tabla 5 Prueba de rangos múltiples para fenoles totales por pasteurización (Tukey HSD) .	60
Tabla 6 Prueba de rangos múltiples para fenoles totales por tipo de néctar (Tukey HSD)...	62
Tabla 7 Prueba de comparación múltiple Tukey para la interacción de pasteurización vs Tipo de néctar para fenoles totales	63
Tabla 8 Análisis de varianza para actividad Antioxidante por DPPH.....	65

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Antioxidantes naturales, alimentos funcionales y beneficios para la salud	34
Figura 2. Secuencia de trabajo de investigación	42
Figura 3. Preparación de la vaina de arveja.....	44
Figura 4. Extracción de compuestos bioactivos.	45
Figura 5. Curva de calibración Cuantificación de fenoles	46
Figura 6. Curva de calibración y determinación de antioxidantes por DPPH.....	47
Figura 7. Microencapsulación del extracto por coacervación compleja.	48
Figura 8. Elaboración del néctar de lulo.....	50
Figura 9. Ilustración del proceso de pasteurización.	51
Figura 10. Pasteurización del néctar de lulo.....	52

Lista de graficas

	Pág.
Grafica 1 Medias para fenoles totales según el tratamiento de pasteurización.....	61
Grafica 2 Medias para fenoles totales por tipo de néctar	62
Grafica 3a. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en el néctar de lulo respecto a los tratamientos de pasteurización.....	66
Grafica 3b. Actividades antioxidantes y fenoles totales presentes en el néctar de lulo con microcápsulas respecto a los tratamientos de pasteurización	67
Grafica 4a. Contenido de fenoles totales durante almacenamiento para néctar de lulo y néctar de lulo con microcápsulas	69
Grafica 4b. Actividad Antioxidante durante almacenamiento para néctar de lulo y néctar de lulo con microcápsulas	70

Lista de anexos

	Pág.
Anexo A: Cuantificación de contenido de fenoles totales	88
Anexo B. Actividad antioxidante por el método DPPH	95
Anexo C. Cálculo de tiempo de retención	100
Anexo D. Diagrama de flujo elaboración de néctar de lulo con adición de microcápsulas. ..	102

Introducción

El uso de residuos agroindustriales ha demostrado ser una solución alternativa a la hora de obtener compuestos bioactivos, ya que la mayoría todavía contiene moléculas interesantes que pueden extraerse y utilizarse en diferentes áreas de aplicación (Palomino, Biasetto, Araujo, & Del Bianchi, 2015). Nariño actualmente es el mayor productor de arveja a nivel nacional, un sector que en el proceso de su comercialización genera grandes cantidades de residuos representados primordialmente por la vaina, la cual al ser desechada puede generar efectos negativos sobre el medio ambiente (Navarrete, 2017).

En la actualidad, muchas empresas buscan procesos que les permita disminuir el desecho de subproductos y obtener compuestos bioactivos para aplicarlos como posibles aditivos en alimentos y bebidas para así ofrecerle al consumidor productos con más nutrientes. No obstante, los compuestos bioactivos pueden ser afectados por factores como el oxígeno, la luz, pH, temperatura y enzimas. Por estos inconvenientes, se ha recurrido a procesos de microencapsulación para brindar a los componentes bioactivos extraídos de los residuos agroindustriales protección contra dichos factores, prolongar su vida útil y facilitar su aplicación en otros productos (Gonzáles, 2016).

Por otro lado, la tendencia actual en alimentación no solo se basa en la composición nutricional de los alimentos sino también en el aprovechamiento de sus propiedades, dadas por la presencia de compuestos bioactivos. En el mercado se están buscando productos que tengan efectos positivos en la salud al mejorar el funcionamiento del cuerpo, prevenir enfermedades y que sean más naturales (Muñoz, 2016). Los consumidores son cada vez más conscientes de los problemas de salud relacionados con la dieta, lo que ha promovido el desarrollo de "alimentos funcionales", o sea aquellos cuyo consumo favorece al aporte de

beneficios sobre la salud, por encima del aporte estrictamente nutricional, es decir, que contengan compuestos que han sido identificados como fisiológicamente activos y con efectos positivos para mantener y potenciar la salud, así como prevenir la aparición de determinadas enfermedades (González, 2013).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la pasteurización sobre una matriz adicionada con compuestos fenólicos microencapsulados. En primer lugar, se extrajo los compuestos bioactivos presentes en la vaina de arveja y posteriormente se microencapsularon por el método coacervación compleja, se evaluó al final de cada proceso la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales del extracto obtenido; por último, se evaluó el efecto de dos tratamientos térmicos en una bebida con adición de los compuestos bioactivos microencapsulados. Los datos obtenidos del diseño experimental fueron analizados mediante el programa Statgraphics © Plus Centurión.

1. Planteamiento del problema, pregunta de investigación y justificación en términos de necesidad y pertinencia

1.1 Descripción de la información

El cultivo de arveja en el departamento de Nariño ocupa uno de los renglones agrícolas más significativo de la economía (Valencia et al., 2013). Para el año 2019 el área sembrada en el departamento fue de 14.692 hectáreas con una producción de 64.621 toneladas y rendimientos de 4,40 t/ha, presentado una participación del 49,1% de la producción nacional ubicándose como el primer productor de arveja en Colombia (FENALCE, 2019).

Su cultivo, presenta una tasa de crecimiento anual del 10,4 % desde el año 2011 logrando posicionarse en más de 30 mercados mayoristas a nivel nacional (Pantoja et al., 2016). De esta manera, el cultivo de arveja representa un ingreso económico importante para pequeños y medianos agricultores en la zona andina del país ya que su producción genera más de 960.000 empleos directos, cuyo valor de la producción sobrepasa los 150.000 millones de pesos al año. (Osorio et al., 2016).

Sin embargo, en el proceso de comercialización de la arveja se generan grandes cantidades de residuos, dado a que el aprovechamiento de la semilla de arveja es en un pequeño porcentaje; en el proceso de desgrane de la arveja, el rendimiento en grano fresco está entre 50% y 60% (Cárdenas, 2010), por lo cual el porcentaje restante es desechado al exterior provocando de esta manera un impacto ambiental negativo, debido a que estos residuos contienen compuestos como lignina, hemicelulosa, celulosa y azúcares que en su degradación generan altas demandas bioquímicas y químicas de oxígeno (Pinchao, 2018).

Por ello, se hace evidente la necesidad de buscar alternativas para el aprovechamiento de este subproducto. Estudios realizados por (Pinchao et al., 2019; Troszyńska et al., 2002)

evidencian que la vaina de arveja contiene compuestos bioactivos importantes que pueden ser reutilizados en la industria alimentaria.

Por otro lado, los antioxidantes presentes en alimentos y bebidas vienen generando gran interés. En efecto, los alimentos suelen ser enriquecidos con cantidades adicionales de antioxidantes, ya sean naturales o sintéticos (Díaz et al., 2017). Sin embargo, en el procesamiento de estos productos se pierde una cantidad considerable de compuestos bioactivos, Valero, et al., (2012) consideran que el tratamiento térmico es una de las principales causas del cambio en el contenido de antioxidantes naturales en los alimentos, por esta razón, una alternativa viable es la microencapsulación de los compuestos de interés, de tal forma que al ser adicionados a una matriz permita mantener la estabilidad de compuestos bioactivos durante su procesamiento y almacenamiento.

De esta forma, la presente investigación pretende dar un valor agregado a dicho residuo, extrayendo y agregando compuestos fenólicos encapsulados a una bebida para conservar su actividad antioxidante después de la pasteurización.

Por tal razón, se planteó la siguiente pregunta de investigación

¿Cuál es el cambio de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de un néctar de lulo adicionado con compuestos fenólicos microencapsulados al someterlo a una pasteurización?

2. Marco teórico

2.1 Importancia económica de la arveja

En Colombia, la arveja (*Pisum sativum* L.) después del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es la leguminosa más importante. Esta ha sido un componente estabilizador de la economía de los pequeños agricultores de las zonas andinas, y ha contribuido a su seguridad alimentaria. Se calcula que de este cultivo dependen más de 26.000 productores fomentando alrededor de 2,3 millones de jornales (Pantoja et al., 2014). Se cultiva en catorce departamentos y su producción se concentra en Nariño con 65621 toneladas (49,1% de la producción nacional), seguido de Cundinamarca (22,8%) y Boyacá (19,5%) (FENALCE, 2019).

Para los pequeños y medianos productores, la arveja es considerada como uno de los productos básicos de la economía campesina. Este cultivo, se destaca en varias regiones del territorio nacional (se produce en 11 de sus 32 departamentos), concretamente en el clima frío y medio, ubicados en el altiplano cundíboyacense y en los departamentos de Nariño y Tolima, entre los 2200 y 3000 msnm (ya que facilita su crecimiento, producción y control de plagas), su producción es muy sencilla y además muy provechosa (tan solo con 1 kilo de semilla sembrada se puede recoger 125 kilos de arveja fresca en vaina) (Peñaranda & Gelves, 2013).

2.1.1 Subproducto de la arveja

En la comercialización de la arveja, se generan importantes volúmenes de residuos representados en la vaina, los cuales podrían ser gran fuente de compuestos bioactivos; durante el raleo, actividad de desgrane de arveja que se lleva a cabo en las plazas de mercado de las principales ciudades del país, se obtiene 40% de vaina (Pinchao, 2018).

2.2 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias químicas que se identifican por retrasar o impedir la oxidación de varias sustancias, cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual pueden provocar alteraciones fisiológicas importantes que provocan diversas patologías. Los antioxidantes poseen propiedades que no solo abarcan las interacciones químico–biológicas, sino que también evitan el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos, en la industria alimentaria se emplean agregándolos a las grasas y otros productos con el fin de retardar el proceso de oxidación, a la vez que previenen el inicio de la rancidez oxidativa (Díaz & Piloza, 2017).

La industria química se encargó de estudiar los antioxidantes, un grupo de compuestos que se caracterizaba por su capacidad de oxidarse en lugar de otras sustancias presentes en el medio de reacción. Su uso se transformó, pasando de aditivos en la vulcanización del caucho hasta conservantes de alimentos. No obstante, fue solo a partir de los años 60 cuando algunas investigaciones revelaron la importancia de los antioxidantes en la salud, con publicaciones acerca del efecto de los flavonoides, el ácido ascórbico y el estrés oxidativo en el cáncer (Matute & Noblecilla, 2019). El crecimiento en la investigación de los antioxidantes se apreciaría en las décadas subsiguientes, en donde varios investigadores se ocuparían en estudiar el efecto protector de los antioxidantes en diferentes enfermedades, intentando entender sus mecanismos y blancos moleculares (Gonzáles, 2013).

2.3 Compuestos fenólicos

El término “compuestos fenólicos” engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol unidas a estructuras aromáticas o alifáticas, los cuales actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos

o bacterianos) ayudando a la pigmentación de muchas partes de la planta. Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de sustancias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras ampliamente conocidas en al menos 10 clases diferentes de su estructura básica (Cadena & Herrera, 2008).

Los compuestos fenólicos presentes en alimentos y productos nutraceuticos, se suscitan a partir de una de las principales clases de metabolitos secundarios en plantas derivados de fenilalanina y en menor medida en algunas plantas también de tirosina. Químicamente, se podría decir que los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático que tiene uno o más grupos hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales. Debido a que poseen efectos que promueven la salud como son reducción de presión arterial y disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares y cáncer, las frutas y vegetales son excelentes fuentes de compuestos fenólicos (Esquivel et al., 2015)

La actividad antioxidante de los polifenoles se centra en la acción de los grupos fenólicos, los cuales poseen la capacidad de ejercer como donadores de electrones, reductores y formadores de puentes de hidrógeno; los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes primarios con características antirradicales o como sustancias reductoras, agentes sinérgicos o como antagonista de metales de transición. Al mencionar la propiedad quelante, se debe resaltar que secuestran el hierro y cobre, los cuales son catalizadores de la formación de radicales libres (Franco & Suárez, 2014).

Los flavonoides constituyen la fuente más importante de polifenoles de las plantas (pigmentos naturales), caracterizados debido a su actividad antioxidante atribuida a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos (Franco & Suárez, 2014). Por tanto, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño

oxidativo, y posee efectos terapéuticos en un gran número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Martínez et al., 2002).

La arveja es una fuente considerable de polifenoles y compuestos fenólicos, que puede aportar antioxidantes a la dieta; autores como (Xu et al., 2007) analizaron el contenido de fenoles totales en arveja verde variedad Crusier y en arveja amarilla variedad Capri y reportan valores de 1,53 y 1,67 GAE/ g muestra respectivamente, por otro lado (Troszyńska et al., 2002) evaluaron el contenido de fenoles totales en la testa de arveja y encontraron un contenido de 460 mg equivalente de catequina/ g m.

2.4 Extracción de compuestos polifenólicos asistida por ultrasonido

Recientemente, el desarrollo de tecnologías limpias de extracción de gran eficiencia ha ganado un gran impulso ya que permiten el aislamiento efectivo de componentes biológicamente activos, sin que se genere pérdida de la actividad biológica, con un buen rendimiento y una elevada pureza; dentro de estos se encuentra la extracción asistida por ultrasonido; su aplicación es apropiada cuando la estabilidad de la materia prima o del componente activo a extraer es susceptible a las elevadas temperaturas de los procesos convencionales. Compuestos tales como, compuestos aromáticos, azúcares, isoflavonoides, polifenoles, aceites esenciales, saponinas, y pigmentos han sido aislados eficientemente dado el efecto beneficioso del ultrasonido sobre la cinética y el rendimiento de la extracción (Rodríguez et al., 2014).

La extracción asistida por ultrasonido utiliza ondas de sonido de baja frecuencia para separar el compuesto de interés de la matriz vegetal. Las ondas sonoras se dispersan en el disolvente y generan la alternancia de la presión en altos y bajos, lo que produce burbujas de cavitación. La energía generada a partir de colapso de las burbujas de cavitación proporciona

una mayor penetración del disolvente en el material celular y mejora la transferencia de masa hacia y desde las interfaces (Barrera et al., 2014).

El ultrasonido por concepto, es un tipo especial de vibración de onda de sonido con frecuencia más allá de la audición humana (20000 Hz), y de acuerdo con el centro de sonoquímica de la Universidad de Coventry en el Reino Unido el ultrasonido puede ser dividido en dos tipos: ultrasonido de señal y de potencia (Tobón, 2015).

Ultrasonido de señal: en el ultrasonido de señal el rango de frecuencia de las ondas se sitúa entre 100 KHz hasta 1 MHz, denominado también como ultrasonido de baja frecuencia; esta señal se ve afectada por los elementos que entran en contacto con ella, permitiendo de esta manera obtener información acerca del producto, principalmente en el estudio de sus propiedades reológicas (Tobón, 2015).

Ultrasonido de potencia: en el ultrasonido de potencia conocido también como ultrasonido de alta frecuencia se utiliza rangos de frecuencia de Ondas desde 18 KHz hasta 100 KHz; al encontrarse una frecuencia más baja y una potencia más alta se logran producir cambios fisicoquímicos en el medio a través de la generación de burbujas de cavitación y subsiguiente colapso de estas mismas (fenómeno donde las ondas de sonido que pasan a través de un medio (solvente) generan procesos de compresión y de expansión), lo cual significa que la producción, el crecimiento y el colapso de burbujas es debido a una gran cantidad de energía que se puede generar a partir de la conversión de energía cinética de movimiento, esto ocurre de forma asimétrica en las interfaces y golpes sobre la superficie sólida. Para obtener el efecto antes mencionado se requiere de un medio líquido (agua, u otro), un generador de energía y un transductor, el cual convierte la energía eléctrica, magnética o cinética en energía acústica (Tobón, 2015).

2.5 Microencapsulación de compuestos bioactivos

La microencapsulación (ME) es un método que incrementa o mantiene la viabilidad de varias sustancias bioactivas. Actualmente, esta técnica se emplea para conservar una amplia diversidad de probióticos, antioxidantes, vitaminas, sabores, entre otros (Flores & Jiménez, 2013). La microencapsulación se fundamenta en el aislamiento del compuesto activo (en estado líquido, sólido o gaseoso) para lograr productos con tamaño micrométrico y forma esférica, en el cual el material activo es preservado por una membrana, facilitando su manejo y permitiendo su liberación cuando se requieran cantidades muy pequeñas. En este sentido dichas cápsulas pueden liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Luna et al., 2016).

La técnica de ME puede ser utilizada para aumentar la resistencia de los materiales alimenticios aplicadas a las condiciones de procesamiento y empaque, mejorando el aroma, sabor, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos, y de esa manera preserva sustancias sensibles al ambiente; las propiedades de liberación de los microencapsulados pueden depender del contenido de las partículas, la solubilización, el rompimiento, el calentamiento, el pH, o la acción enzimática (Luna et al., 2016).

Por su parte, la selección del material o materiales del recubrimiento está determinada generalmente por los requerimientos del sistema en cuestión y su aplicación final (Nava et al., 2015). En la industria de alimentos se emplean diversos materiales que funcionan como recubrimiento, mejor conocidos como materiales encapsulantes, los cuales pueden ser de origen natural o sintético; algunos biopolímeros biodegradables que se han recomendado en diversas investigaciones son colágeno, gelatina, albúmina, quitosano y alginato, entre otros (Flores & Jiménez, 2013).

Como se ha evidenciado por diversos autores, los compuestos antioxidantes son sustancias de gran interés, que pueden ser extraídos de los alimentos; debido a su alta reactividad e inestabilidad deben ser protegidos y estabilizados para diversas aplicaciones como por ejemplo formulaciones nutraceuticas. La microencapsulación permite la conservación de este tipo de compuestos bioactivos, considerados como el material activo (núcleo) el cual está incrustado en una matriz de polímero (material de encapsulación) para actuar como una barrera protectora contra factores externos o ambientales como la temperatura, luz, humedad, radiaciones, entre otros (Herrera, 2013).

Sin embargo, Guerra (2017) indica que tras el proceso de microencapsulación existe una pérdida de estos frente a los niveles encontrados en el extracto fresco, la pérdida se debe en gran parte a la temperatura de microencapsulación, ya que algunos compuestos fenólicos son termo sensibles; otro factor que define la pérdida de los compuestos es el agente encapsulante utilizado.

Los procesos de microencapsulación se pueden dividir en dos: procesos químicos y procesos mecánicos; los procesos químicos se dividen en las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular, dentro de los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Parra, 2010).

2.5.1 Microencapsulación por coacervación compleja

El término coacervación proviene del latín *coacervare*, que significa juntar. Este método es considerado como el método original de encapsulación y consiste en la separación de un sistema coloidal en dos fases y dependiendo de la cantidad de polímeros que

intervienen, se puede clasificar en coacervación simple o compleja. El soluto polimérico se separa y se obtiene el coacervado, que se caracteriza por tener forma de pequeñas gotas líquidas. Este coacervado se distribuye sobre las partículas a encapsular y se forman las microcápsulas. La solubilidad de las microcápsulas en agua es baja, este comportamiento es el esperado bajo el método de coacervación. Lo anterior tiene un efecto positivo ya que ratifican su estabilidad y control sobre su liberación (Guerra, 2017).

Con esta técnica se pueden obtener microcápsulas esféricas muy pequeñas, de hasta 4 μm y con una carga de material a encapsular de alrededor del 90%. Además, proporcionan una buena protección contra las pérdidas por volatilización y contra la oxidación (Martin et al., 2009).

El proceso de coacervación compleja más utilizado es a base de goma arábica y gelatina que presentan carga negativa y que al reducir el punto isoeléctrico de la gelatina modifica su carga a positiva mientras que la goma arábica se mantiene negativa; la atracción eléctrica entre ambas soluciones genera la formación del coacervado. Esta técnica permite la encapsulación de diversos compuestos activos en estado líquido y sólido como antioxidantes, minerales, aceites vitaminas, y grasas, fragancias, colorantes, saborizantes y probióticos en cápsulas esféricas de baja viscosidad (Lara, 2016).

2.6 Cuantificación de polifenoles totales

Uno de los métodos que se utilizan ampliamente para la determinación de polifenoles totales presentes en extractos de plantas es el método de Folin-Ciocalteu, debido a que es una reacción colorimétrica determinada en el espectrofotómetro UV / VIS, lo cual es rápido, fácil y no muy costoso. En este método es necesaria la utilización de una sustancia de referencia

(estándar), para poder medir el total de concentración de los grupos hidroxilos fenólicos presentes en los extractos (Hernández, 2015).

El método de Folin-Ciocalteu se fundamenta en la capacidad que tiene los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo directamente proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Gutiérrez et al., 2008).

2.7 Determinación de antioxidantes

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado, pueden usarse intermediarios o productos finales para valorar dicha actividad; en la práctica se realizan muchos modelos de prueba in vitro para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés; sin embargo, es importante considerar que los modelos presentan diferentes variaciones, lo que puede dificultar un poco la comparación de los resultados entre un método y otro (Tovar, 2013).

Con base a las reacciones químicas, generalmente los ensayos para determinar de capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías: Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET) y Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) (Tovar, 2013).

2.7.1 DPPH

Una de las metodologías más usadas para determinar la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, se basa en la estabilidad del radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) la cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, otorgándole así una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica, centrada alrededor de una longitud de onda de 520 nm. Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con un compuesto que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R.) se produce la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia. El parámetro IC₅₀, que es la concentración necesaria para obtener un 50% de efecto, es generalmente usado para la interpretación de este método (Gutiérrez et al., 2008).

2.8 Pasteurización

En la conservación de alimentos, los tratamientos térmicos son los más utilizados debido a que brindan un producto seguro para el consumo humano y una mayor efectividad en la destrucción de microorganismos causantes del deterioro de los alimentos (Rodríguez et al., 2020); la pasteurización es de los tratamientos térmicos más utilizados para el procesamiento de bebidas y néctares de frutas. Su modo de acción se basa en la reducción de cinco unidades logarítmicas (5-log) de la población de microorganismos más resistentes de importancia para la salud pública que afecten a dicho producto (Burbano, 2015).

En la pasteurización los alimentos se someten a temperaturas entre 70-100°C durante el tiempo necesario para destruir microorganismos y enzimas específicos (Hernández, 2014) con el fin de aumentar la vida útil del alimento, Sin embargo, cuando un alimento es calentado con el propósito de destruir microorganismos, también se producen varios tipos de reacciones

químicas y fisicoquímicas (Robles, 2016), que pueden dañar las propiedades organolépticas del alimento así como reducir la biodisponibilidad y contenido en ciertos compuestos bioactivos, especialmente si se aplica bajo condiciones severas (Hernández, 2014).

Actualmente, los consumidores buscan alimentos que, además de tener una larga vida útil, retengan al máximo la calidad nutricional de la materia prima original. Para evitar ciertos efectos indeseables en productos como el néctar, es importante controlar la temperatura y el tiempo de pasteurización (Burgos, 2016). Por tal razón es importante establecer los parámetros de la pasteurización para conseguir la máxima retención en valor nutritivo y las características organolépticas, para ello deben utilizarse tratamientos a elevadas temperaturas durante tiempos cortos (HTST), la (HTST) es un tratamiento térmico que utiliza temperaturas inferiores a 100°C y tiene por objetivo disminuir significativamente la carga microbiana del producto (Hernández, 2014). Es uno de los métodos más aplicados en la industria por lo general es el más conveniente ya que se expone el alimento a altas temperaturas durante un breve tiempo en el que se eliminan o inactivan microorganismos (Robles, 2016).

Por otro lado, El proceso de pasteurización con una combinación de temperatura inferior a 80°C y duración mayor de 30 seg conocida como (MTLT) temperatura suave durante largo tiempo, es también un tratamiento térmico usado en la industria alimentaria debido a que mejora productos alimenticios mínimamente procesados otorgándole una vida útil más larga (Ağçam, et al., 2018).

Petruzzi, et al., (2017) mencionan, que la MTLT puede proporcionar el aumento del contenido fenólico total en jugos como el de jamun negro y una alta retención de ácido ascórbico y otros compuestos fenólicos en el jugo de piña; así como puede garantizar la

reducción del recuento aeróbico en placa en el jugo de granada y la inactivación completa del recuento total en placa en el jugo de maoberry.

2.9 Alimentos enriquecidos

El concepto de nutrición ha evolucionado notablemente gracias a la investigación constante y al aumento de la información disponible. La prevención de patologías crónicas no transmisibles se ha convertido en el foco de interés tanto desde la Salud Pública como desde la investigación y la tecnología (Olagnero et al., 2007).

La fortificación de alimentos con diversos tipos de compuestos bioactivos (CB) ha ganado interés debido a la creciente tendencia del consumidor hacia los alimentos funcionales (Restrepo, 2016). Según Santacruz et al., (2013) los alimentos funcionales se refieren a aquellos productos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una acción específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental. Son similares en apariencia a los alimentos comunes, son consumidos en una dieta usual y se ha demostrado que presentan beneficios fisiológicos a la salud humana. La concentración de los nutrimentos se puede incrementar por encima de los niveles contenidos en forma natural en el alimento, resultando un producto enriquecido. Un alimento funcional es un alimento al que se le ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, un alimento en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades (Ferrer & Dalmau, 2001)

Según Busso (2016); el concepto de alimentos funcionales nació en Japón, en los años 80s. posterior al fin de la segunda guerra mundial y como resultado del notable crecimiento en las condiciones económicas del país, mejorando la expectativa de vida de la población y como

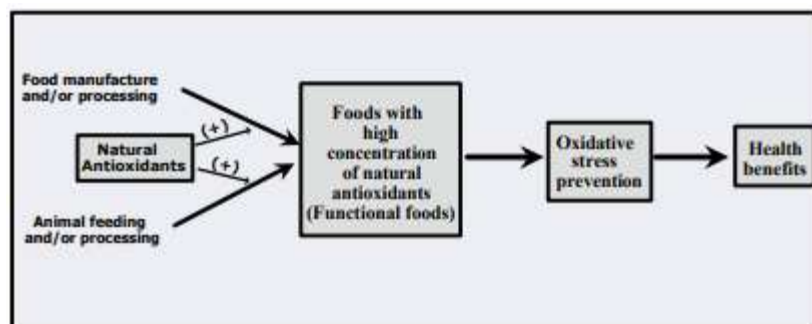
consecuencia a un aumento en la población de mayor edad. El incremento en el gasto en salud motivó al gobierno a investigar en conjunto con la academia y la industria de alimentos el desarrollo de un nuevo tipo de alimento que verdaderamente tuviesen un efecto positivo en la salud de la población a consecuencia de su consumo. Así se originaron los “alimentos para usos específicos de salud”, identificados como FOSHU, Food for Specified Health Uses; tratándose de una nueva categorización de algunos alimentos que científicamente comprobados a nivel clínico y epidemiológico garantizan un efecto positivo en la prevención de algunas enfermedades específicas. Estos productos deben pasar por una estricta selección y son sometidos constantemente a una evaluación de sus efectos. Los productos que obtienen esta categoría llevan un logo característico en sus envases que es ampliamente reconocido y valorado por el consumidor (Busso, 2016).

En la actualidad, se evidencia una clara preocupación en nuestra sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe. Incluso se acepta sin reclamación alguna que la salud es un bien preferentemente controlable a través de la alimentación, por lo que se detecta en la demanda alimentaria una marcada preferencia por aquellos alimentos que se anuncian como beneficioso para la salud (Alvídrez et al., 2002). Por lo cual los consumidores han empezado a ver la dieta como parte primordial para la prevención de las enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la osteoporosis entre otras; de esta manera es que se presenta un fenómeno denominado de autocuidado (self-care) que es el factor principal que motiva a decidir comprar alimentos saludables; este factor es el que ha regido el crecimiento de la industria de los alimentos funcionales (Alvidrez et al., 2002).

Los antioxidantes naturales pueden ayudar a prevenir el desarrollo temprano de enfermedades en las que el estrés oxidativo es un componente importante o derivado de la patología, como las enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, enfermedades neurológicas, etc., que permiten a las personas una mejor salud y calidad de vida, principalmente durante la senescencia. Los alimentos de alto consumo, como los productos lácteos, el pan, los jugos y las bebidas, las carnes, los vegetales procesados, etc., pueden transformarse en alimentos más saludables mediante la adición de antioxidantes naturales. Los antioxidantes naturales se pueden definir como "preservadores naturales de la calidad y la salud del alimento" (Valenzuela et al., 2003). La Figura 1, resume el concepto de alimentos funcionales que contienen antioxidantes naturales y los beneficios para la salud.

Figura 1.

Antioxidantes naturales, alimentos funcionales y beneficios para la salud



Fuente: (Valenzuela et al., 2003).

2.10 Antecedentes del tema

En la indagación científica se encontró solo un estudio sobre fenoles en vaina de arveja extraídas por ultrasonido, Pinchao et al., (2019) estudiaron el efecto que ejerce la temperatura, el tiempo, la relación sólido-líquido y la concentración de etanol sobre la extracción de fenoles totales asistida por ultrasonido para vaina de arveja, obteniendo como resultado que la temperatura no tiene efecto significativo sobre la extracción de fenoles, en cambio, el tiempo,

la relación solido-líquido y la concentración de etanol si ejercieron efecto sobre la extracción; la mayor concentración de fenoles totales para cada factor se alcanzó a los 20 min, con una relación solido-liquido 1:40 y etanol al 50%.

Se encontraron varios estudios sobre bebidas adicionadas con compuestos bioactivos microencapsulados, entre ellos; Muñoz (2016) reporta el diseño de un producto bifuncional a base de lulo donde desarrollo microcápsulas a partir de pulpa de lulo y extractos vegetales (brócoli, tomate y espinaca) por el método spray-drying, a las cuales les evaluó su capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales y posteriormente formulo una bebida bifuncional; como resultados obtuvo que los microencapsulados con mayor contenido de fenoles totales fueron las que solo contenían lulo y en las mezclas el contenido aumentó al aumentar la proporción de lulo. El mayor contenido de polifenoles se observó en la mezcla que contenía lulo-espinaca, seguida por las mezclas con brócoli y las de tomate.

La actividad antioxidante fue mayor en el microencapsulado de lulo (1,3 mmol Trolox/100 g) lo cual lo relaciona con el contenido de fenoles que también fue mayor en este sólido, con respecto a las mezclas, El contenido de carotenoides totales fue mayor en los microencapsulados de lulo que contenían espinaca y la presencia de brócoli incrementó ligeramente la actividad antihipertensiva. Sin embargo, las propiedades sensoriales se deterioraron por la presencia de “off-flavors”. Así que la autora mencionada anteriormente escogió el microencapsulado de lulo para incorporarlo en una bebida láctea en tres concentraciones diferentes (3, 5 y 7%) obteniendo mayor nivel de agrado y aceptación por parte de un panel de consumidores la muestra con mayor proporción de microencapsulados (63%) En cuanto a la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la bebida con diferentes inclusiones de microencapsulados se observó que tanto la actividad antioxidante

como el contenido de fenoles totales aumento proporcionalmente con el incremento de la concentración.

Lee et al., (2013) mencionan que, la liberación de resveratrol en una leche suplementada con microcápsulas de brote de cacahuete durante el almacenamiento a 4 ° C durante 16 días aumenta proporcionalmente con la concentración y el almacenamiento, por lo cual concluyeron que las concentraciones bajas (0,5 y 1,0%) de leche suplementada con las microcápsulas minimizan la tasa de liberación de resveratrol y no afectan la calidad de la leche suplementada.

Arrazola et al., (2014) obtuvieron extractos de antocianinas a partir de berenjena encapsuladas por el método secado por aspersión y evaluaron la estabilidad del pigmento en polvo en bebidas isotónicas y bebidas a base de aloe vera, concluyendo que las mejores condiciones de secado por aspersión fueron, temperatura de entrada de aire de 180 °C y concentración de sólidos en la alimentación del 30 %; a las muestras se analizaron los cambios en color y contenido de antocianinas durante los días de almacenamiento del producto a temperaturas de 4 °C y 25 °C. La temperatura de almacenamiento influyó en la estabilidad de antocianinas y también en los parámetros de color, siendo la temperatura de 25 °C la que produce mayor velocidad de degradación en ambas bebidas. La bebida isotónica y la bebida a base de aloe vera con maltodextrina y almacenada a 4 °C presentaron mayor retención de antocianinas (54 y 77.5 % respectivamente).

Castilla & Muñoz (2017), evaluaron el efecto de un zumo de vegetales encapsulado como fuente de calcio y fibra; y la adición de cáscara de piña pulverizada sobre las características físicas y sensoriales en un yogurt cuchareable, desarrollaron un diseño experimental que consistió en mantener constante la adición de zumo encapsulado en alginato

de sodio y variar la cantidad de cascara de piña pulverizada en concentraciones de 5, 7 y 9% (T1, T2 y T3). Como resultados obtuvieron que el tratamiento T2 fue el que mejor respondió con respecto al porcentaje de sinéresis con un valor de 18,34% además que evidenciaron que las capsulas absorben agua y también ayudan al control de este parámetro. Con respecto a la viscosidad obtuvieron que el patrón tuvo mejor respuesta (3812,3 cP), sin embargo, T1 y T2, también cumplieron con el estándar de yogurt cuchareable, y el tratamiento que presento mayor fuente de calcio y fibra fue el tratamiento T2 por lo cual fue elegido como muestra para el desarrollo de análisis sensorial. Las capsulas tuvieron buena aceptación por parte de los panelistas, sin embargo, la cascara de piña pulverizada otorgó una sensación arenosa en el yogurt. Los autores mencionados concluyeron que la adición de cascara de piña pulverizada y el zumo de vegetales encapsulados podrían ser empleados en la formulación de un yogurt cuchareable enriquecido ya que se logró incrementar el contenido de calcio en un 75% con respecto a un yogurt cuchareable normal.

En otro estudio, se evaluó la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en un yogurt con adición de microcápsulas de jugo de zapote negro obtenidas mediante secado por aspersión empleando almidones de arroz modificado (fosfatadas y succinatadas). Los resultados obtenidos en las microcápsulas, indicaron que las microcápsulas de arroz fosfatadas mantuvieron una mayor protección a los compuestos fenólicos (valores máximos de 693 ± 27.85 y mínimos de 401 ± 27.85 mg EAG/100g (B.S)), y una conservación superior de actividad antioxidante (974 a 250 μ M ETrolox / 100 g B.S), por lo cual las microcápsulas de arroz fosfatadas fueron adicionadas en el yogurt y realizaron la medición de compuestos fenólicos retenidos a los días 7, 14 y 21 obteniendo valores respectivos de 302 ± 3.47 , 247 ± 1.1 ,

191±2.07 mg EAG/100 g de yogur. La actividad antioxidante que presentó el yogur fue de 4.49 y 4.19 % de inhibición (Del Juncal, 2016).

Martínez (2017), estudio el efecto de la microencapsulación sobre la bioaccesibilidad gástrica in vitro de compuestos bioactivos de taxo (*Passiflora mollissima*), mora (*Rubus glaucus* Benth) y mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), evaluando la cantidad de polifenoles totales y capacidad antioxidante en cada una de las fases de la digestión. Obteniendo como resultado que las microcápsulas con maltodextrina-goma arábiga (MD-GA) presentó mayor protección ya que permitió una mejor liberación en la fase intestinal y final, obteniendo: 60 % y 80 % de contenido de polifenoles totales para taxo, mora y mortiño, respectivamente. La capacidad antioxidante fue superior a la muestra control; la autora mencionada preparo una bebida con el microencapsulado de taxo y realizo un análisis sensorial para evaluar la calidad organoléptica de la bebida; y un análisis de aceptabilidad. Los panelistas no percibieron ninguna diferencia en todos los atributos de las muestras preparadas con microencapsulados y la muestra control. El 91 % de los encuestados manifestaron su disponibilidad para consumir la bebida preparada con microencapsulados.

Así mismo, otro estudio realizado por (González, 2016) se evaluó la bioaccesibilidad gástrica in vitro de antioxidantes de un jugo comercial y un jugo comercial enriquecido con microcápsulas de pulpa agotada de naranja antes, durante y después de la digestión gastrointestinal; se demostró que la actividad antioxidante del jugo comercial aumento al añadir las microcápsulas con el subproducto de naranja. En la fase inicial del jugo comercial obtuvo 27,6 $\mu\text{mol Eq Trolox/mL}$, y al añadir el subproducto encapsulado su actividad antioxidante se incrementó en un 74 % con concentración de 48,6 $\mu\text{mol Eq Trolox/mL}$; los resultados de la capacidad antioxidante en sus distintas fases mostraron que la actividad

antioxidante del jugo comercial aumentaba al añadir un subproducto de naranja. La capacidad antioxidante fue evaluada mediante los métodos de DPPH, ABTS y FRAP, en los cuales obtuvieron incremento de concentraciones de 76 %, 81 % y 110 % de jugo comercial enriquecida con subproducto microencapsulado en relación con la muestra de jugo comercial. Se presentó mayor estabilidad de antioxidantes en la muestra de jugo comercial enriquecido con subproducto con 110 % y 38 % para los métodos ABTS y DPPH respectivamente, aunque para el método FRAP la estabilidad fue menor, su concentración de capacidad antioxidante de 16 $\mu\text{mol Eq. Trolox/mL}$ fue mayor al contenido de antioxidantes de jugo comercial con 8 $\mu\text{mol Eq. Trolox/mL}$.

Con respecto al efecto que ejerce los tratamientos térmicos sobre los compuestos bioactivos se encontró que el efecto de la temperatura de pasteurización y proporción de mezclas binarias de pulpa de carambola y mango afecta significativamente sobre la capacidad antioxidante lipofílica, obteniendo mayor capacidad antioxidante con una proporción de 51:49 y una temperatura de 91°C (Encina et al., 2013).

Así mismo, Reyes, (2013), analizó los cambios físicos y de capacidad antioxidante en jugo de açaí producidos por el efecto de pasteurización y almacenamiento, evaluaron tratamientos de pre y post pasteurización, obteniendo que la pasteurización genero polimerización de antocianinas pero conservo el color, el almacenamiento afecto el contenido de fenoles y capacidad antioxidante llegando a la conclusión que la temperatura de almacenamiento menor a 30°C evita perdidas importante de los compuestos de interés y deterioro de capacidad antioxidante.

Por otro lado, Rodríguez, (2011) elaboro una bebida de fruto falso de marañón con adición de betalainas, probando el efecto de 4 clarificantes para disminuir su astringencia y

determino también condiciones de pasteurización a 85, 87 y 91°C durante 60, 90 y 120 s; reportando como resultados que el tratamiento clarificante que mantuvo las propiedades fisicoquímicas en el jugo de marañón en mayor porcentaje fue el quitosano, el máximo de polifenoles se observó a 89°C por 60 seg teniendo una disminución del 18% y concluyendo que los polifenoles si se ven influenciados por el tiempo y la temperatura de pasteurización. Con respecto a la actividad antioxidante se observó un mayor valor a 89°C para un tiempo de 120 seg teniendo una pérdida del 15% en relación al jugo sin tratamiento, en las betaninas se obtuvo la mayor concentración a 87°C por 90 seg teniendo una disminución del 13.6%.

Díaz & Pérez, (2018), evaluaron la influencia del tratamiento térmico de pasteurización sobre el contenido de antocianinas y fenoles totales en jugo de uva, utilizando tiempos de 17 a 39 min a temperaturas de 75 a 99°C para encontrar el rango óptimo de pasteurización, obteniendo como resultado que la mayor concentración de compuestos fenólicos (259.46 mg AGE/L - 289.067 mg AGE/L), así como en antocianinas (106.074 mg/L - 110.834 mg/L) se encuentra un rango de temperatura de (75 °C – 77°C) y tiempo de (17 min – 20 min) de optimización.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la pasteurización sobre una matriz adicionada con compuestos fenólicos microencapsulados obtenidos de la vaina de arveja (*pisum sativum* l.)

3.2 Objetivos específicos

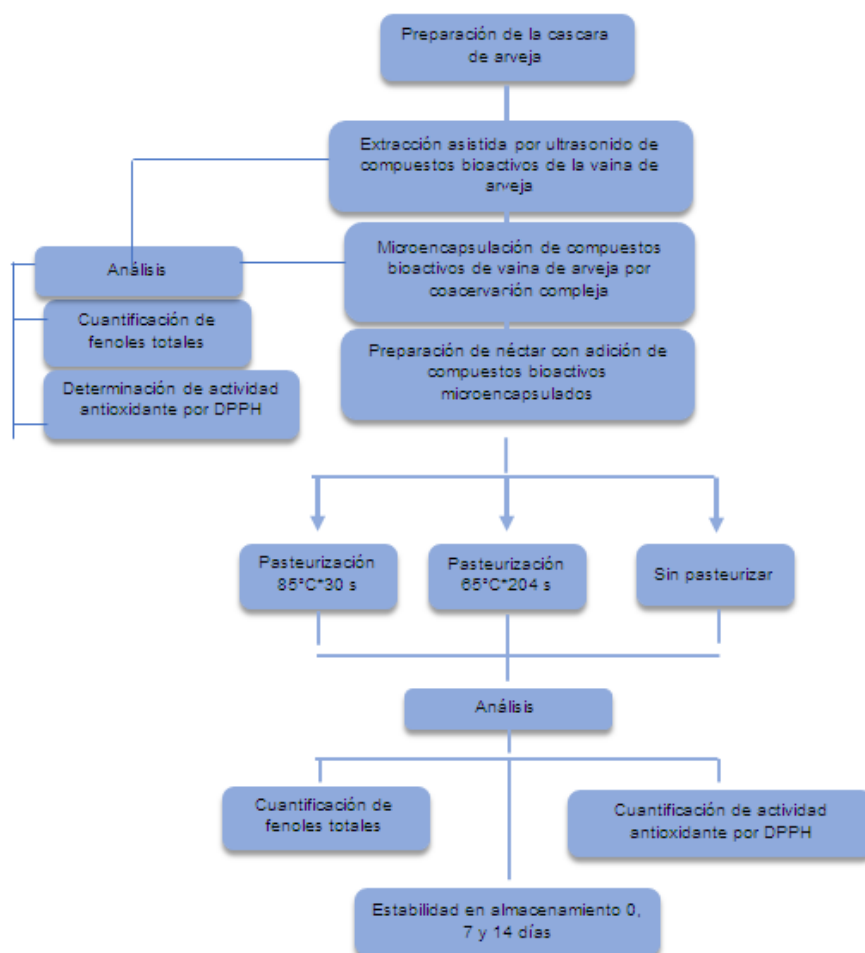
- Determinar la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales del extracto y los microencapsulados obtenidos a partir de la vaina de arveja.
- Evaluar el efecto de la pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar de lulo adicionado con extractos de vaina de arveja microencapsulados.

4. Metodología

En la figura 2 se describe la secuencia del trabajo de investigación para entender los procesos metodológicos realizados.

Figura 2.

Secuencia de trabajo de investigación



Fuente: Esta investigación.

4.1 Lugar de la investigación y operaciones preliminares

4.1.1 Localización

La investigación se llevó a cabo a nivel experimental en el Laboratorio de Investigación en Conservación y Calidad de Alimentos de la Universidad de Nariño, Sede Torobajo ubicada en Pasto (Nariño). A una altura de 2.527 msnm, con una temperatura media de 18°C y humedad relativa del 70%.

4.2 Determinación de la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales del extracto y microencapsulados obtenidos a partir de la vaina de arveja

4.2.1 Obtención de las muestras

Se utilizó vainas de arveja (*Pisium sativum*, L) sin grano, que se recolectaron en un centro de acopio de la ciudad de San Juan de Pasto (Mercado de Potrerillo).

4.2.2 Preparación de las muestras

Las cáscaras de arvejas se lavaron y desinfectaron con una solución de agua-hipoclorito de sodio a 50 ppm, se dejó escurrir el agua a temperatura ambiente y posteriormente se congelaron durante 12 horas y se secaron por liofilización. Luego se trituraron en un molino (IKA A11), se tamizaron con una malla 80 y se empacaron en frascos de vidrio ámbar cubiertos con papel aluminio y se almacenaron en refrigeración (Pinchao et al., 2019).

Figura 3.***Preparación de la vaina de arveja***

Fuente: Esta investigación.

4.2.3 Proceso de extracción de fenoles para la cáscara de arveja deshidratada

La extracción se realizó acorde a la metodología ya optimizada por (Pinchao, 2018). El polvo liofilizado de la cáscara de arveja se sometió a extracción asistida por ultrasonido en el equipo FB 11205 Fisherbrand. Se pesaron 0,25 g de muestra y se adiciono 12,50 mL de etanol al 58%, en seguida se mezcló con ayuda de un orbital shaker Orbit 1900 a 250 rpm durante 3 min y de inmediato se sometió a sonicación por 18 min. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 2500 rpm por 15 minutos en una centrífuga Dynamic Velocity 18R y el sobrenadante se concentró en un rotavapor al vacío por 2 horas. El extracto obtenido se guardó en vidrios color ámbar, cubiertos con papel aluminio y se almacenó en refrigeración.

Figura 4.***Extracción de compuestos bioactivos.***

Fuente: Esta investigación.

4.2.4 Contenido de fenoles totales

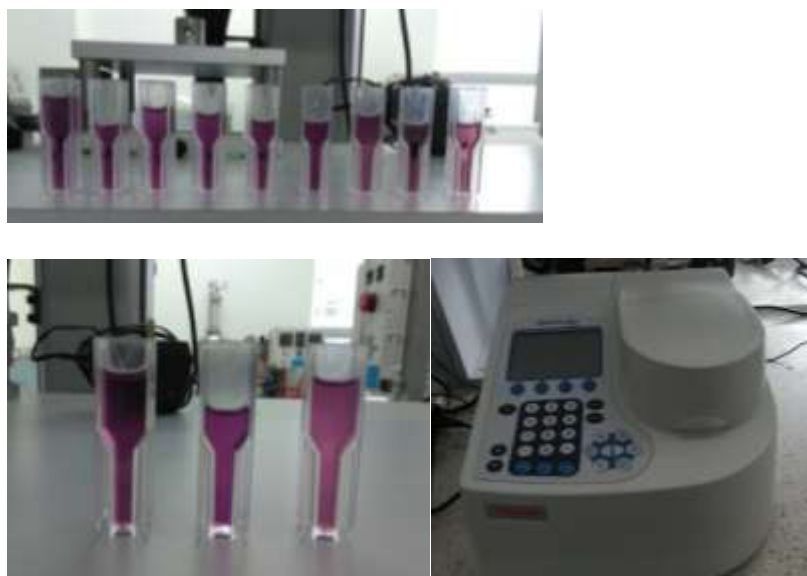
La cuantificación de fenoles totales se hizo por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999) con ligeras modificaciones (Ballard et al., 2009); (Fernández, 2018). En tubos de ensayo cubiertos con papel aluminio se adicionaron 500 μL de muestra y se mezcló con 500 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 7500 μL de agua destilada, se dejó reposar por 10 min y posteriormente se agregaron 1500 μL de carbonato de sodio Na_2CO_3 al 20%, se agitó y se dejó en reposo por 2 horas. Finalmente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Genesys 10UV -Vis Scanning Thermo Fisher scientific a 765 nm. Los resultados se expresarán como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de peso seco a partir de una curva patrón construida con soluciones estándar de ácido gálico a concentraciones de 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg/mL (Anexo A)

Figura 5.***Curva de calibración Cuantificación de fenoles***

Fuente: Esta investigación.

4.2.5 Actividad antioxidante por DPPH

La actividad antioxidante por el método DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) para el extracto de cáscara de arveja se determinó acorde a la metodología reportada por (Jimenez, 2013) con ligeras modificaciones (Pérez & Saura, 2007). Se tomó 0,1 mL del extracto y se mezcló con 3,9 mL de DPPH al 0.1 mM en etanol. La mezcla se dejó en reposo por 30 min en la oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Genesys 10UV -Vis Scanning Thermo Fisher scientific a una longitud de onda de 517 nm. Se realizó una curva de calibración y los resultados se expresaron en actividad antioxidante equivalente Trolox ET (Anexo B).

Figura 6.***Curva de calibración y determinación de antioxidantes por DPPH.***

Fuente: Esta investigación.

4.2.6 Obtención de las microcápsulas por coacervación compleja

La coacervación compleja de los compuestos fenólicos se realizó con base a la metodología optimizada por (Pinchao, 2018). Se preparó una emulsión primaria utilizando 0,7 g de lecitina líquida, 7,5 mL aceite de soya y 12 mL de extractos fenólicos acuosos, la mezcla se homogeneizó a 12000 rpm durante 3 min en un Ultraturrax (OLAB D-500). Se mezcló la emulsión primaria con solución de gelatina al 2,5 % (p/v) preparada a 45 °C en el Ultraturrax a 10.000 rpm durante 3 min. En seguida se adicionó la goma arábica gota a gota a la doble emulsión con ayuda de una bureta, con agitación magnética continua en plancha de calentamiento, se ajustó el pH a 3,74 con ácido acético al 10 %, la temperatura se mantuvo en 45 °C, una vez ajustado el pH se enfrió con ayuda de un baño con hielo, finalmente se centrifugó a 4500 rpm durante 6 min, se eliminó la fase pobre en coacervados y el precipitado o sobrenadante se llevó a secado en cajas Petri durante 24h a 30 °C en un horno de

convección (GEMMY-CO IN-106). Después del secado se redujo el tamaño de partícula de las muestras y se almacenaron en frascos ámbar en refrigeración hasta los análisis.

Figura 7.

Microencapsulación del extracto por coacervación compleja.



Fuente: Esta investigación.

4.2.7 Análisis de la actividad antioxidante (DPPH) y análisis de fenoles totales.

Se pesó 100 mg de microcápsulas y se adicionó 5 mL de etanol al 50 %, la mezcla se agitó en vortex durante 1 min, se sometió a ultrasonido por 20 min, se centrifugó a 4500 rpm durante 5 min, se filtró el sobrenadante y se realizó la cuantificación de fenoles totales por el método de Follin y la actividad antioxidante por el método DPPH descritos previamente (Pinchao, 2018).

4.3 Evaluación del efecto de la pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar de lulo adicionada con extractos de vaina de arveja microencapsulados.

Para evaluar el contenido de compuestos fenólicos en el néctar de lulo con la adición de las microcápsulas, se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2*3 con dos replicas obteniendo un total de 18 tratamientos; se emplearon 2 variables independientes, tratamiento térmico (sin pasteurizar, pasteurización a 65°C * 204 s y pasteurización a 85°C * 30 s) y tipo de néctar (N= néctar y Nm= néctar con microcápsulas). Las variables de respuesta del diseño fueron la cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante equivalente a Trolox (ET). Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza ANOVA con 95% de confianza, empleando el programa estadístico STARTGRAPHICS CENTURION XV.

4.3.1 Proceso de elaboración del néctar

La preparación del néctar se realizó teniendo en cuenta la norma técnica colombiana para zumos (jugos), néctares, purés (pulpas) y concentrados de frutas (NTC 5468). En el Anexo D se muestra el diagrama de flujo para la elaboración del néctar.

Figura 8.***Elaboración del néctar de lulo***

Fuente: Esta investigación.

Posteriormente se le adiciono las microcápsulas al néctar de lulo en una concentración de 4% (Gonzáles, 2016; Martínez, 2017) y se realizó una pasteurización a temperaturas que garantizan la destrucción microbiana, 85°C por 30 segundos y a 65°C por 204 segundos (Petruzzi et al., 2017; Deshaware et al., 2019; Wibowo et al., 2019). Finalmente se midió la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales antes y después de la pasteurización.

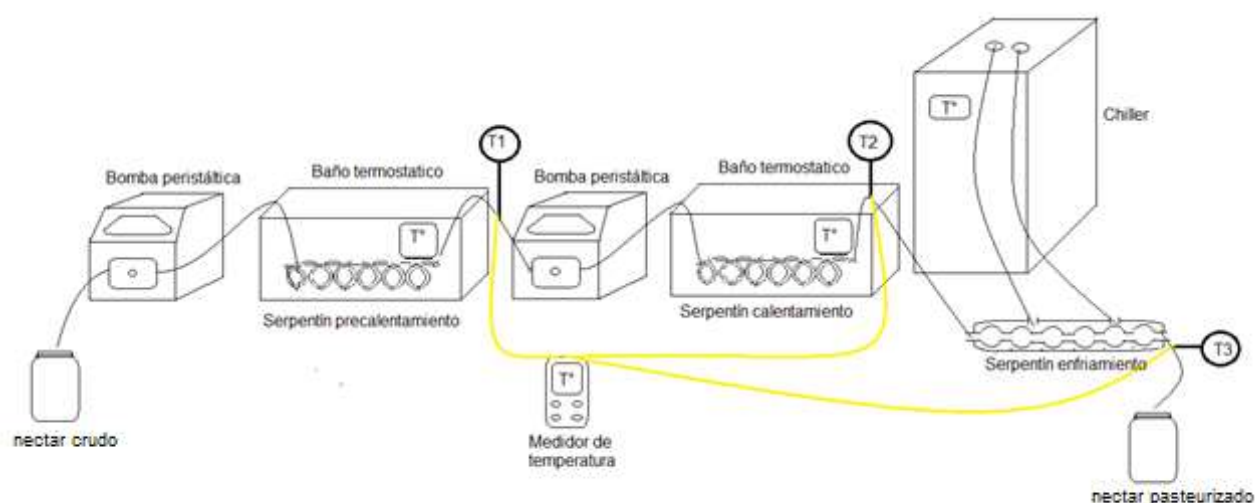
4.3.1.1 Pruebas preliminares para establecer el tiempo y la temperatura en el pasteurizador .

En primer lugar, se construyó un pasteurizador de laboratorio (ver figura 8), utilizando dos bombas peristálticas SPP-N6 para impulsar el néctar hacia dos serpentines de vidrio que se encuentran en el interior de baños termostáticos, se usó uno baño termostático EYELA N 1001S – WD 115V con precisión de ± 0.1 para precalentamiento y otro baño termostático PolyScience WB20A11B con precisión de ± 0.1 para el calentamiento del néctar,

posteriormente el néctar pasteurizado es enviado a un serpentín de enfriamiento conectado a un chiller EYELA CCA-115V con precisión $\pm 2^{\circ}\text{C}$. con el fin de someterlas a un choque térmico brusco, para finalmente ser envasados en recipientes de vidrio previamente esterilizados. Se registraron las temperaturas con un datalogger a la salida de cada una de las zonas del pasteurizador.

Figura 9.

Ilustración del proceso de pasteurización.



Fuente: Esta investigación.

Luego, se realizaron pruebas preliminares para calcular el tiempo de retención en los serpentines (ver formula en Anexo C) y así asegurar que el tiempo de pasteurización sea el correcto. Se controló la temperatura al final del precalentamiento, calentamiento y enfriamiento con termocuplas conectadas al datalogger con el fin de garantizar las temperaturas de salida en cada zona.

Tratamiento de pasteurización 1

Para la zona de precalentamiento se estableció la temperatura de 80°C en el baño termostato para así obtener una temperatura del néctar a la salida de 45°C . Para la zona de

calentamiento se estableció una temperatura de 95°C en el baño con un tiempo de retención de 30 segundos para obtener una temperatura de salida del néctar de 85°C.

Tratamiento de pasteurización 2

Para la zona de precalentamiento se fijó una temperatura de 50°C en el baño termostático para lograr una temperatura de salida del néctar de 45°C. Para la zona de calentamiento se fijó una temperatura de 75°C en el baño con un tiempo de retención de 204 segundos, obteniendo una temperatura de salida de 65°C en el néctar. Para ambos tratamientos de pasteurización la temperatura del baño de enfriamiento se fijó en 5°C para obtener una temperatura de salida del néctar entre 20 -25°C.

Figura 10.

Pasteurización del néctar de lulo



Fuente: Esta investigación.

5. Resultados y discusión

5.1 Determinación de la actividad antioxidante del extracto y los microencapsulados obtenidos a partir de la vaina de arveja

5.1.1 Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante del extracto de vaina de arveja

En la Tabla 1, se consignan los resultados obtenidos de la cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante del extracto de vaina de arveja. Se observa que el valor promedio de fenoles totales presentes en el extracto de vaina de arveja fue de $6,050 \pm 0,227$ mg EAG/ g.b.s. lo cual concuerda con los valores reportados por Pinchao et al., (2019) quienes determinaron los compuestos fenólicos en vaina liofilizada de arveja en condiciones similares de proceso obteniendo valores entre $5,40 \pm 0,01$ y $5,75 \pm 0,11$ (mg EAG/g muestra liofilizada); sin embargo, en el estudio realizado por Babbar et al., (2012) obtuvieron un valor mayor al encontrado en esta investigación (13.6 mg GAE / g-peso seco), esta variación se puede atribuir al uso de metanol como solvente de extracción debido a su polaridad y afinidad por estos componentes (Tobón, 2015). Ghorbani, (2016) al igual que Avilés & Cruz, (2020) también reportaron valores superiores a los de esta investigación, $12,12 \pm 0,19$ mg GAE/g y 19 mg GAE/g respectivamente para extractos etanólico de vaina de arveja. Estas variaciones en los resultados pueden ser debidas a varios factores como el método de extracción, genotipo de la muestra, condiciones en las que se desarrolló el cultivo y operaciones de manejo durante los análisis (Stanisavljevic et al., 2015; Moncayo, 2016).

Tabla 1***Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante en extracto de vaina de arveja***

Muestra	Fenoles totales (mg EAG/g muestra base seca)	Actividad antioxidante (mM ET/g muestra base seca)
Extracto	6,050 ± 0,227	0,023 ± 0,001

Nota: se muestran los promedios de tres repeticiones ± desviación estándar con un coeficiente de variación de 3.76% y 3.81% respectivamente.

La tabla 2 indica referencias de fenoles totales presentes en diferentes residuos agroindustriales, se puede observar que los valores obtenidos de la vaina de arveja son similares a los de la cascara de papa y cascarilla de café, y superiores a valores reportados de residuos como la cascara de tomate de árbol, cascara de plátano, cascara de lulo entre otras; sin embargo, son inferiores a los reportados para cascara de naranja y pulpa de café; si bien el valor de fenoles totales presentes en la vaina de arveja no es relativamente alto si es aceptable al compararlo con otros residuos.

Tabla 2***Fenoles totales presentes en diferentes residuos agroindustriales***

Residuo Agroindustrial	mg EAG/ g.b.s.	Referencia
Cascara de papa	7,63 ± 0,09	Chaves et al., (2016).
Borra de café	2,23 ± 1,23	Cortez et al., (2017).
Pulpa de café	10,54 ± 1,32	Cortez et al., (2017).
Cascarilla de cacao	4,55 ± 0,43	Franco. & Suarez, (2014).
Cascarilla de café	6,63 ± 0,80	Franco. & Suarez, (2014).
Cascara de naranja	27.8 ± 0,64	Franco. & Suarez, (2014).
Cáscara de guanábana	3,40±0,51	Rojas et al., (2019).
Cáscara de maracuyá	0,86±0,07	Rojas et al., (2019).
Cáscara de plátano	1,54±0,08	Rojas et al., (2019).
Cáscara de piña	2,78±0,42	Rojas et al., (2019).
Cáscara de lulo	2,68±0,11	Rojas et al., (2019).
Estopa de coco	1,10±0,06	Rojas et al., (2019).
Cáscara de tomate de árbol	1,26±0,37	Rojas et al., (2019).

Fuente: Esta investigación.

La comparación de los resultados en cuanto a la actividad antioxidante con otras investigaciones es difícil debido a las unidades en las que éstas se expresaron y los métodos que se utilizaron, no obstante, los resultados son comparables a los obtenidos en semillas de arveja reportados por Agboola et al., (2010) donde obtuvieron un valor de $10,9 \pm 0.81$ (mM Trolox/100 g peso seco), este valor es más alto que el que se obtuvo en la presente investigación. Stanisavljevic et al., (2015) obtuvieron una actividad antioxidante entre 0.72

mM ET/g y 2.55 mM ET/g en extractos de cubierta de semillas de diferentes genotipos de guisantes. Estas diferencias se pueden atribuir a las variedades y genotipos existentes de arveja, como se evidenció claramente en el estudio del autor antes mencionado, donde la actividad antioxidante varió de un genotipo a otro. La cantidad de fenoles totales y la actividad antioxidante de un producto, depende de varios factores como son: el cultivo, la variedad, las prácticas agrícolas, estado fenológico, grado de madurez, la zona agroecológica, entre otros (Jofré, 2020).

5.1.2. Cuantificación de fenoles totales y actividad antioxidante en microencapsulado de extracto de vaina de arveja

Tabla 3

Cuantificación de fenoles totales, actividad antioxidante y porcentaje de eficiencia de encapsulación del microencapsulado de extracto de vaina de arveja

Muestra	Fenoles totales	Actividad	Eficiencia de encapsulación
	(mg EAG/g	antioxidante (mM	
	muestra base seca)	ET/g muestra base seca	
Microencapsulado	5,282 ± 0,233	0,022 ± 0,001	81,2%

Nota: se muestran los promedios de tres repeticiones ± desviación estándar con un coeficiente de variación de 4,42%, 3,99% y 3,40% respectivamente.

La coacervación compleja, se fundamenta en la unión de dos biopolímeros de cargas opuestas que forman una pared que encapsula un material de interés. Las microcápsulas obtenidas por este método poseen excelentes características de liberación controlada y resistencia al calor (Hernández & Jiménez, 2018). No se encontraron reportes en la literatura

sobre microencapsulados de compuestos fenólicos de vaina de arveja, sin embargo, se encontró el estudio realizado por Rojas, (2016) donde microencapsularon por el método de coacervación un extracto de mora, usando como material de pared caseína – pectina y caseína – goma arábica, obteniendo fenoles totales de 2,9 y 3,2 mg AG/g respectivamente. En el estudio de Rojas (2016) se notó una disminución en el contenido de fenoles de estos microencapsulados del 46,3% y 40,7% al compararlos con el extracto puro que fue de 5.4 mg AG/g. Esta diferencia puede atribuirse a las condiciones térmicas utilizadas en el proceso de microencapsulación que uso el autor antes mencionado, donde sometió los sistemas de encapsulación con el extracto a una temperatura de 90°C por 5 minutos; ya que algunos compuestos fenólicos son termolábiles y pueden verse afectados al ser sometidos a altas temperaturas (Trindade & Zapata, 2015).

La actividad antioxidante tiene un comportamiento similar a la de los compuestos fenólicos, las condiciones térmicas y el material de pared utilizado para el proceso de encapsulación del extracto de vaina de arveja, en la presente investigación, causaron una disminución mínima de su actividad antioxidante y fenoles totales, comparada al extracto inicial.

Es preciso anotar que, uno de los indicadores para evaluar la calidad del proceso de microencapsulación es la eficiencia de encapsulación (Hernández & Jiménez, 2018). Según Guerra, (2017) para la encapsulación por coacervación compleja se esperaría obtener una eficiencia del 78 – 91%, este valor está en función de la concentración del material encapsulado y los materiales encapsulantes. En la tabla 3 se puede observar que la eficiencia de encapsulación obtenida en este estudio (81,2%) concuerda con lo reportado en literatura. Un valor similar obtuvo Queiroz et al., (2020), quienes encapsularon aceite de café verde

usando como material pared gelatina y goma de anacardo, reportando una eficiencia del 85%. Nuestra eficiencia fue superior a la reportada por Gómez, et al., (2016), los cuales encapsularon astaxantina presentando una eficiencia del 59%, atribuyendo su baja eficiencia a la pared delgada de las capsulas formadas. Lo mismo sucedió en el estudio de Rojas (2016), quien obtuvo una eficiencia del 63,4% para la encapsulación de extracto de mora usando un sistema de protección caseína – goma arábica.

5.2 Evaluación del efecto de la pasteurización sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de un néctar adicionado con extracto de vaina de arveja microencapsulado

5.2.1 *Análisis estadístico para cuantificación de fenoles*

En la Tabla 4 se observa que los factores: pasteurización, tipo de néctar y la interacción entre ambos presentan un valor-P menor a 0.05, indicando que causan un efecto significativo sobre esta variable con un nivel de significancia del 95.0%. Para determinar cuáles medias fueron significativamente diferentes de otras, se realizó la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para cada factor.

Tabla 4***Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales***

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A: pasteurización	225,733	2	112,867	14,87	0,0006
B: tipo de néctar	93,8633	1	93,8633	12,36	0,0043
INTERACCIONES					
AB	60,4392	2	30,2196	3,98	0,0472
RESIDUOS	91,0974	12	7,59145		
TOTAL (CORREGIDO)	471,133	17			

Fuente: Esta investigación.

En la prueba de rangos múltiples (Tabla 5) se observa que existen dos grupos homogéneos para fenoles totales con respecto a la pasteurización, mostrando claramente que el valor más bajo de fenoles totales se presentó en los néctares sin pasteurizar (52,5218 mg EAG/100 g.b.f.), indicando un efecto positivo para los dos tipos de pasteurización ya que se nota un aumento de compuestos fenólicos comparado con los néctares crudos.

Tabla 5***Prueba de rangos múltiples para fenoles totales por pasteurización (Tukey HSD)***

<i>pasteurización</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
sin pasteurizar	6	52,5218	1,12483	A
85°C x 30 s	6	58,4788	1,12483	B
65°C x 204 s	6	60,961	1,12483	B

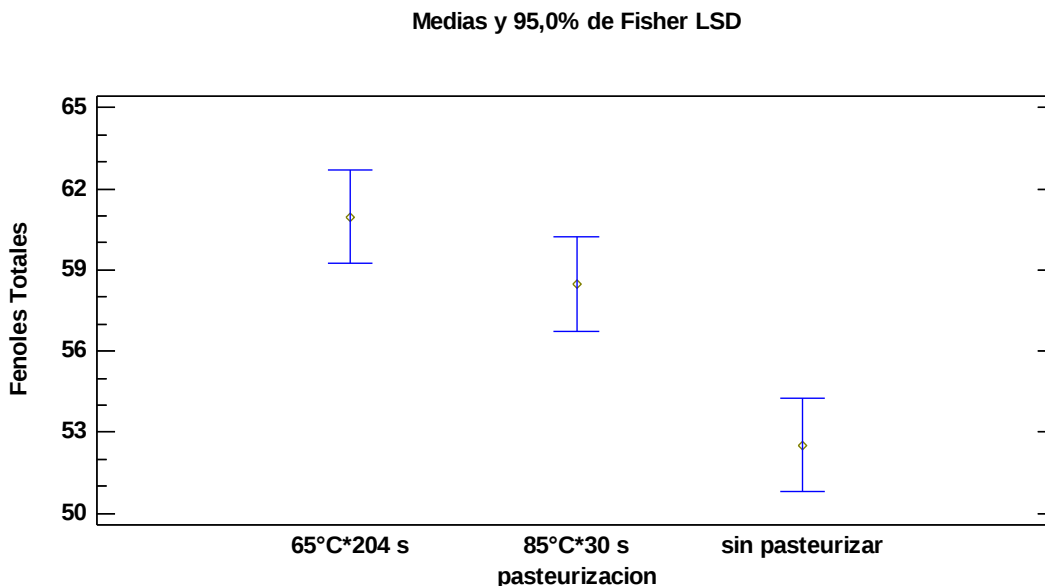
Nota: medias con letra común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Fuente: Esta investigación.

La Grafica 1 indica las medias para cada tratamiento de pasteurización, se observa que los dos tipos de pasteurización son semejantes, mientras que hay significante con respecto a los néctares sin pasteurizar, corroborando que los dos tratamientos térmicos aumentaron la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el néctar. Resultados similares fueron reportados por Romero et al. (2014), quienes pasteurizaron espinaca a 75°C por 15 min obteniendo un aumento de los compuestos fenólicos, atribuyendo este aumento al debilitamiento o ruptura de las paredes celulares vegetales que favorece la disponibilidad de estos compuestos. Igualmente, Casa & Castillo (2017) evidencian un aumento de compuestos fenólicos en una bebida funcional sometida a pasteurización a 80°C, 85°C y 90°C por 5 min, observando que a medida que aumenta la temperatura hay un incremento de contenido de compuestos fenólicos, argumentando que este aumento se debe a la liberación de ácidos fenólicos unidos a los constituyentes celulares, reafirmando lo dicho anteriormente.

Grafica 1

Medias para fenoles totales según el tratamiento de pasteurización



Fuente: Esta investigación.

No obstante, existen estudios en los cuales los tratamientos de pasteurización disminuyeron significativamente el contenido de fenoles totales en néctares, tal como lo afirma Valencia & Guevara (2013), en un estudio en el cual notaron una disminución de compuestos fenólicos presentes en el néctar de zarzamora después del proceso de pasteurización. Cortez (2019) argumenta, que el aumento o disminución de compuestos bioactivos se debe posiblemente a la naturaleza de los polifenoles presentes en la fruta, los cuales puede que posean una estructura que les permita cierta estabilidad térmica o exista un efecto sinérgico entre ellos.

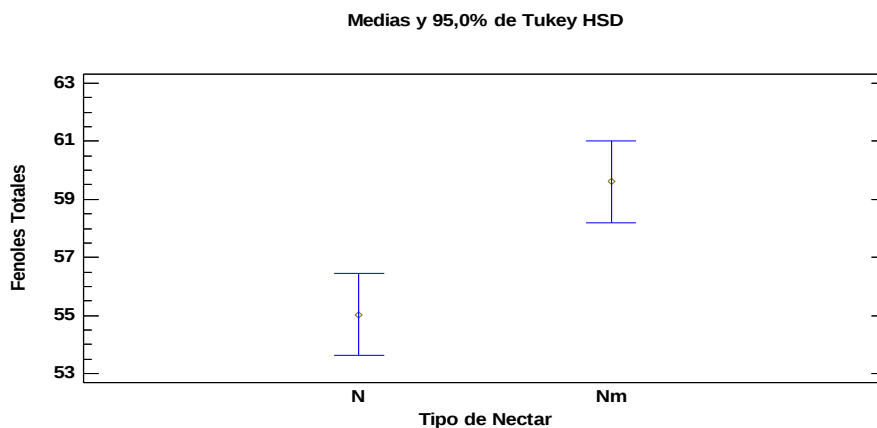
Tabla 6***Prueba de rangos múltiples para fenoles totales por tipo de néctar (Tukey HSD)***

<i>tipo de Néctar</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
N	9	55,037	0,91842	A
Nm	9	59,604	0,91842	B

Nota: medias con letra común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Fuente: Esta investigación.

En la Tabla 6, mediante el método (HDS) de Tukey, se identifica que existe diferencia significativa entre el contenido de fenoles totales en el néctar solo y el néctar con adición de microcápsulas, obteniendo la mayor cantidad de fenoles totales en el néctar con adición del extracto rico en fenoles microencapsulados. Algo similar describe Hamid et al., (2020) al agregarle compuestos fenólicos encapsulados a una bebida de frutas, registrando un aumento de fenoles (164.27 EAG/100 mL) comparados con la muestra control (17.43 EAG/100 mL), así mismo Çam et al., (2014) mencionan un aumento en compuestos fenólicos para un helado enriquecido con fenoles de cascara de granada microencapsulados.

Grafica 2***Medias para fenoles totales por tipo de néctar***

Fuente: Esta investigación.

Es evidente que la adición de fenoles microencapsulados en matrices alimentarias resulta beneficioso, ya que aumenta las propiedades funcionales del producto final, resultando así más atractivo y saludable para el consumidor. Martínez (2017) considera que el uso de microencapsulados en bebidas ejerce un efecto positivo en la conservación y mejora de la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos.

Tabla 7

Prueba de comparación múltiple Tukey para la interacción de pasteurización vs Tipo de néctar para fenoles totales

Pasteurización	Tipo de Néctar	Medias LS	Grupos Homogéneos
65°C * 204 s	N	59.273	Ab
65°C * 204 s	Nm	62.649	Bc
85°C * 30 s	N	53.713	A
85°C * 30 s	Nm	63.244	Bc
Sin pasteurizar	N	52.124	A
Sin pasteurizar	Nm	52.919	A

Nota: medias con letra común no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Fuente: Esta investigación.

Para la interacción que existe entre la pasteurización y el tipo de néctar, se realizó la prueba de comparación múltiple de tukey. La Tabla 7 nos indica que la pasteurización generó un aumento de fenoles tanto para el néctar solo como en el néctar con la adición de microcápsulas, sin embargo se observa que el contenido de fenoles en el néctar con microencapsulados fue superior en los dos tipos de pasteurización, debido a la liberación activada térmicamente de las microcápsulas, en donde las fluctuaciones de temperatura

aumentan la velocidad de liberación por cambios en el estado físico de las partículas a través del colapso y la fusión del material de revestimiento (Mojtaba & Mohammad, 2020). Con respecto a esto Kaderides et al., (2019) afirman que la encapsulación aumenta la resistencia de los compuestos fenólicos agregados a matrices alimentarias sometidas a procesos térmicos, después de observar una menor degradación de estos mismos en galletas con incorporación de compuestos fenólicos microencapsulados horneadas a 210°C por 10 min.

et al., (2020), expresan que la morfología de las microcápsulas incorporadas en un jugo de tamarindo permaneció similares a las microcápsulas poco después de la coacervación compleja, indicando que no hubo un cambio significativo en la microestructura cuando se aplica a la bebida una pasteurización de 85°C por 30 s. Esto nos conduce a deducir que el método de microencapsulación y los materiales de revestimiento usadas en la presente investigación contribuyeron a preservar el contenido de fenoles totales en el néctar después de ser sometido a una pasteurización, ya que se nota un aumento del 18% al 20 % de compuestos fenólicos en los néctares comparados con los néctares crudos y de un 5% y 17% con respecto a los néctares sin microcápsulas pasteurizados, demostrando que solo un porcentaje mínimo de microcápsulas fueron liberadas después del tratamiento térmico. Caso contrario menciona Çam et al., (2014) al observar una disminución en el contenido de compuestos fenólicos en helado con incorporación extracto de granada microencapsulados después de una pasteurización de 80°C por 10 minutos.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la importancia de la encapsulación de compuestos fenólicos para su preservación durante tratamientos térmicos, la pared de las microcápsulas formada por la interacción de la gelatina y goma arábiga actúa como barrera protectora de los compuestos bioactivos dando buenos resultados en los néctares

pasteurizados. La presencia de proteína en el material pared (gelatina) permite la formación de una red fuerte durante la desnaturalización como resultado de las altas temperaturas y previene la degradación de polifenoles (Saponjac, et al., 2016).

5.2.2 Análisis estadístico para actividad antioxidante por DPPH

La tabla 8 muestra que el valor-P de la razón-F es mayor a 0.05 indicando que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias con un valor de confianza del 95.0%.

Tabla 8

Análisis de varianza para actividad Antioxidante por DPPH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: pasteurización	0,0102921	2	0,00514606	3,23	0,0753
B: tipo de néctar	0,00196356	1	0,00196356	1,23	0,2884
INTERACCIONES					
AB	0,00548144	2	0,00274072	1,72	0,2200
RESIDUOS	0,019096	12	0,00159133		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0368331	17			

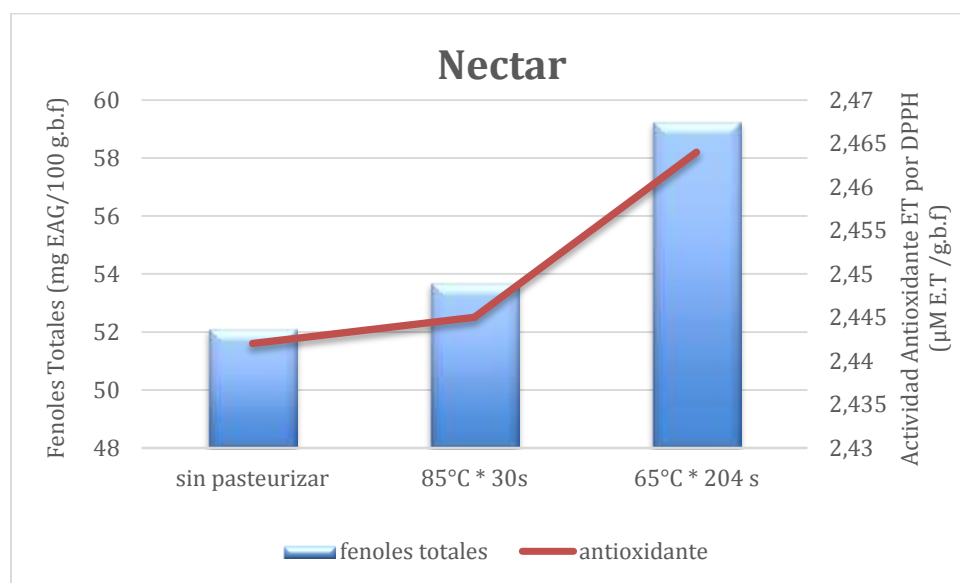
Fuente: Esta investigación.

Resultados similares obtuvieron Deshaware et al., (2019) al no observar un cambio significativo en la actividad antioxidante de un jugo de calabaza sometido a diferentes temperaturas de pasteurización en comparación con el jugo crudo. En diferentes estudios se demuestra la correlación positiva que existe entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, tal es el caso De la Riva (2010) donde encontró una alta correlación entre ambos presentando una relación directa entre ellos ya que la actividad antioxidante se ve

directamente influenciada por el contenido de fenoles totales. En el presente estudio a pesar de que se no encontró un cambio significativo en la actividad antioxidante para los néctares después de los tratamientos, si existe una alta correlación ($R^2=0,99$) entre esta y los fenoles totales, como se puede observar en la gráfica 3a y 3b tanto para el néctar solo como para el néctar con microcápsulas se evidencia un mínimo aumento de la actividad antioxidante para ambas pasteurizaciones.

Grafica 3a.

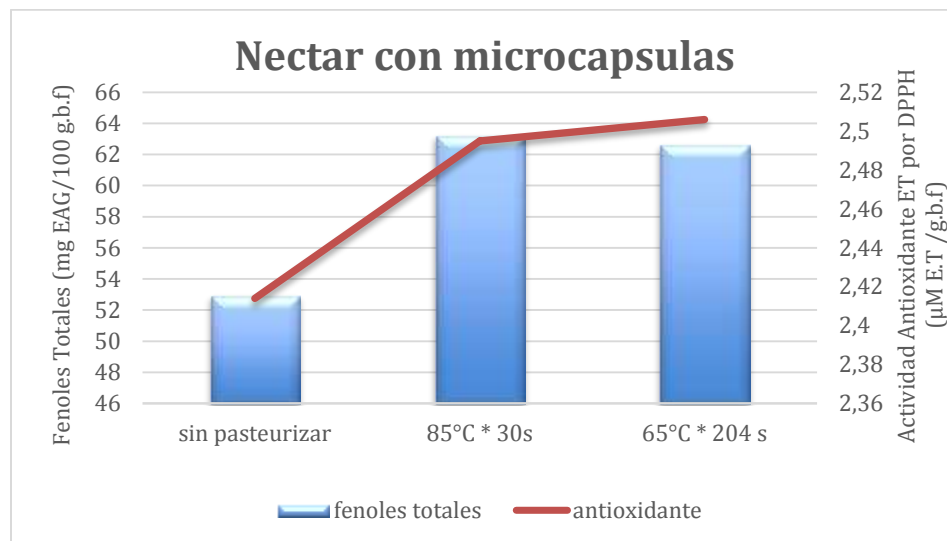
Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en el néctar de lulo respecto a los tratamientos de pasteurización



Fuente: Esta investigación.

Grafica 3b.

ctividades antioxidantes y fenoles totales presentes en el néctar de lulo con microcápsulas respecto a los tratamientos de pasteurización



Fuente: Esta investigación.

La diferencia no significativa en la actividad antioxidante puede darse por que los fenoles que se liberaron en las pasteurizaciones contenían una actividad antioxidante baja. Zielinski y Kozłowska (2000) señalan que no todos los compuestos fenólicos tienen la misma actividad antioxidante, algunos son más potentes y otros más débiles, además pueden desarrollar antagonismos o sinergismo consigo mismos o con otros componentes presentes en el alimento.

Los valores bajos de DPPH también se pueden atribuir a la lentitud de la reacción entre este y las moléculas del sustrato, (Calderón & Moran, 2017). Por esto es importante el implementar diferentes métodos para la determinación de la actividad antioxidante.

5.2.3 Cambios en el contenido de fenoles y actividad antioxidante del néctar con compuestos fenólicos microencapsulados durante almacenamiento

Se realizó un seguimiento del contenido de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante del néctar de lulo y néctar de lulo con microcápsulas pasteurizados a 85°C por 30 s durante almacenamiento, ya que este fue el tratamiento de pasteurización con el cual se obtuvo un valor más alto en fenoles totales.

En la gráfica 4a y 4b se observa que el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante tanto en el néctar de lulo como en el néctar de lulo con adición de microcápsulas se mantuvieron estables en los 14 días de almacenamiento. Lo anterior se podría atribuir a la inactivación de la peroxidasa a causa del tratamiento térmico usado en esta investigación; Wibowo et al., (2019) mencionan, que el uso de la pasteurización a 85°C por 30 s desactiva completamente esta enzima; por ende, la inactivación de esta evita la degradación de compuestos fenólicos durante el tiempo de almacenamiento (Rabie, et al., 2014). También se puede apreciar que el néctar de lulo con adición de microcápsulas contiene valores más altos de compuestos fenólicos y actividad antioxidante durante los 14 días de almacenamiento; Kaderides et al., (2019) afirman que esto se debe al efecto protector de la encapsulación del extracto fenólico. Así mismo se observa una evolución de dichos compuestos similar a los del néctar sin microcápsulas en el almacenamiento, lo que nos conlleva a deducir que los materiales de revestimiento que se usaron para microencapsular el extracto de vaina de arveja evito la fuga de estos en los 14 días que fueron almacenados; estas observaciones son consistentes con los hallazgos realizados por Queiroz et al., (2020) en donde las microcápsulas de cafestol incorporadas a un jugo de tamarindo permanecieron estables durante los 30 días de almacenamiento al no detectar la presencia de cafestol en el jugo, indicando que la pared de

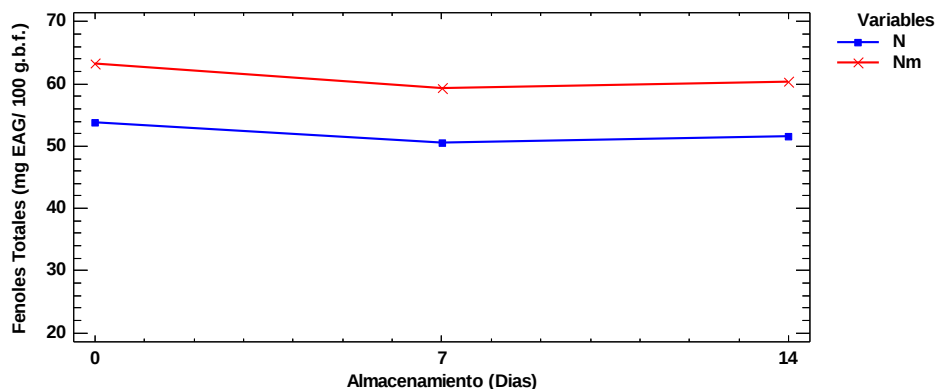
gelatina y goma de anacardo fueron efectivas para promover su estabilidad. Así mismo Çam et al., (2014) enfatizan que los microencapsulados de cascara de granada se mantuvieron estables en los días de almacenamiento evitando la oxidación debido a que el material de recubrimiento actúa como barrera protectora para los fenoles.

Saponjac, et al., (2016) mencionan, que el tipo de agente encapsulante y la relación núcleo – pared son variables importantes para la encapsulación de compuestos fenólicos y que el contenido de proteína presente en el material encapsulante garantiza la protección de los bioactivos durante el almacenamiento.

Finalmente se podría deducir que las microcápsulas permitieron conservar el contenido de compuestos fenólicos presentes en el néctar de lulo.

Grafica 4a.

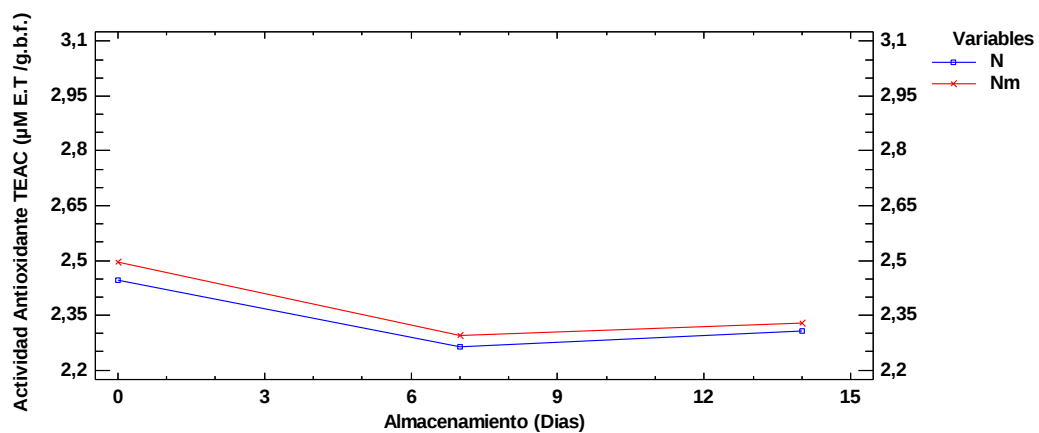
Contenido de fenoles totales durante almacenamiento para néctar de lulo y néctar de lulo con microcápsulas



Fuente: Esta investigación.

Grafica 4b.

Actividad Antioxidante durante almacenamiento para néctar de lulo y néctar de lulo con microcápsulas



Fuente: Esta investigación.

Conclusiones

- El método de encapsulación por coacervación compleja permitió mantener el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante similares a los del extracto puro, obteniendo una eficiencia de encapsulación del 81.2%. El uso de una metodología optimizada para el proceso de encapsulación proporcionó las condiciones adecuadas para garantizar una estabilidad prolongada del material del núcleo.
- La incorporación de compuestos fenólicos microencapsulados extraídos de vaina de arveja aumentó el contenido de fenoles totales del néctar de lulo en un 18% y 20% que se evidencio después de ser sometido a pasteurizaciones de 65°C por 204 s y 85°C por 30 s respectivamente, esto debido a que le tratamiento térmico pudo romper algunas de las microcápsulas y liberar los compuestos fenólicos encapsulados.
- Realizando la prueba de rangos múltiples se encontró que no hubo diferencias en el contenido de fenoles totales en las muestras pasteurizadas; sin embargo, dicho contenido fue significativamente más alto en comparación con las muestras sin pasteurizar; siendo la pasteurización a 85°C por 30 s la que obtuvo numéricamente un mayor contenido de fenoles totales en el néctar con adición de microcápsulas.
- No se encontró diferencia significativa en la actividad antioxidante para los tratamientos de pasteurización ni para los dos tipos de néctar.
- El proceso de encapsulación por coacervación compleja y el uso de goma arábica y gelatina como material protector evitó la pérdida de compuestos bioactivos al ser adicionados en una matriz sometida a tratamientos térmicos y estos permanecieron estables durante almacenamiento.

Recomendaciones

- Debido a los valores bajos obtenidos en la actividad antioxidante por el método DPPH, se recomienda aplicar otros métodos para lograr tener una mejor caracterización de dicha actividad en los extractos de cáscara de arveja.
- Realizar una caracterización morfológica de las microcápsulas adicionadas al néctar después del proceso de pasteurización para observar cómo afecta las diferentes temperaturas a la estructura de las mismas.
- Realizar un análisis de composición del néctar de lulo con y sin microcápsulas para detectar cuales son los compuestos liberados después de los tratamientos de pasteurización.
- Realizar pruebas sensoriales y de aceptabilidad del néctar adicionado con compuestos fenólicos microcapsulados.
- Evaluar la bioaccesibilidad in vitro del néctar adicionado con extracto de vaina de arveja microencapsulado.

Referencias

- Ağçam, E., Akyıldız, A., & Dündar, B. (2018). Thermal Pasteurization and Microbial inactivation of fruit juices. *Fruit Juices*. 309-339. doi:10.1016/b978-0-12-802230-6.00017-5.
- Agboola, S., Mofolasayo, O., Watts, B., & Aluko, R. (2010). Functional properties of yellow field pea (*Pisum sativum*) seed flours and the in vitro bioactive properties of their polyphenols. *Journal Research International*, 43, 582-588.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.013>
- Alvidrez, A., Gonzalez, B., & Jiménez, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos; alimentos funcionales. *Revista Salud Publica y Nutrición*, 3(3), 293–301.
<https://doi.org/10.1021/jf100364k>
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). Obtención y evaluación de la estabilidad de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) en bebidas. *Informacion Tecnologica*, 25(3), 43–52. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300007>
- Avilés, M. & Cruz, J. (2020). *Estudio químico y actividad antioxidante de la vaina de arveja (Pisum sativum)*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil].
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/50874>
- Babbar, N., Singh, H., Kaur, S., & Kumar, V. (2012) Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal Food Scientists & Technologists (India)*. DOI 10.1007/s13197-012-0754-4.
- Ballard, T., Mallikarjunan, P., Zhou, K., & O’Keefe, S. (2009). Optimizing the extraction of

- phenolic antioxidants from peanut skins using response surface methodology. In *Journal of agricultural and food chemistry* ,(57). <https://doi.org/10.1021/jf8030925>
- Barrera, M., Comini, L., Martini, R., Núñez, S., Bottini, S., & Cabrera, J. (2014). Comparisons between conventional, ultrasound-assisted and microwave-assisted methods for extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae). *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(2), 478–484. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.08.023>
- Burbano, J. (2015). *Influencia de pasteurización abierta y al vacío en las propiedades fisicoquímicas y la aceptación de un néctar de piña (Ananas comosus L.) naranjilla (Solanum quitoense Lam.) y borojó (Borojoa pattoni Cuatrec.)* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/11964/1/AL%20565%20>
- Burgos, J. (2016). *Estudio de la influencia de la pasteurización al vacío sobre las propiedades nutricionales, sensoriales y microbiológicas de néctar de naranja (Citrus x sinensis) y zanahoria (Daucus carota.)*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnicas de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24089/1/AL612>
- Busso, C. (2016). *Estabilidad de polifenoles y caracterización fisicoquímica y sensorial en pulpas de frutos rojos con relación a los procesos tecnológicos para la obtención de alimentos e ingredientes alimenticios*. [Universidad de Buenos Aires]. <https://core.ac.uk/download/pdf/148073047.pdf>
- Cadena, T., & Herrera, M. (2008). *Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante*. [Tesis de pregrado, Universidad Industrial de Santander] <http://infocafes.com/portal/wp->

content/uploads/2017/01/128865.pdf.

Çam, M., Cihat, N. & Erdogan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *Journal Food Science and Technology*. 55(1). 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011>

Calderón, K., & Morán, D. (2017). *Optimización del contenido de compuestos bioactivos en el néctar mixto elaborado a partir de zumos de maracuyá (Passiflora edulis), carambola (Averrhoa carambola) y mango (Mangifera indica) utilizando el diseño de mezclas.*

[Tesis de pregrado - Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].

<https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/2015/BC-TES-TMP-871>

Ccasa, J. & Castillo, R. (2017). *Aislado proteico y efecto antioxidante del extracto de la moringa (Moringa oleífera Lam) para la elaboración de una bebida funcional.* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altilpano]

Ccasa_Mamani_Julieta_Rosalía_Castillo_Tacora_Roxana.pdf (unap.edu.pe)

Castilla, C., & Muñoz, W. (2017). *Elaboración de un yogur cuchareable fortificado con zumo de vegetales encapsulado y cáscara de piña pulverizada para población infantil.*

[Tesis de pregrado, Universidad De La Salle]

https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/72/.

Chaves, D., Bolaños, V., Bucheli M. & Osorio, O. (2016). Extracción asistida por microondas de compuestos antioxidantes de papa (*Solanum tuberosum*). *Vita.e*

23(1).<https://www.proquest.com/openview/0b858e54895d3696e2a4dfe16bc744b9/1.pdf>

- Cortez, C. (2019). *Determinación del efecto del procesamiento sobre el contenido de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante (ORAC) y el perfil de compuestos polifenólicos del jugo de huiscoyol (Bactris guineensis)*. [Tesis de maestría, Universidad de Costa Rica]. <http://hdl.handle.net/10669/80862>
- Cortez, S., Ortiz, A., Ramírez, L., & Aristizábal. (2017). *Determinación de antioxidantes en subproductos de café producido y comercializado en Risaralda (Colombia)*. Universidad Tecnológica de Pereira. <http://hdl.handle.net/11059/7597>
- De la Riva, D. (2010). *Comparación del contenido de fitatos, polifenoles y capacidad antioxidante de la quinua (Chenopodium quinua willd.) cruda y procesada. Variedad salcedo inia*. [Tesis de pregrado – Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3389>
- Del Juncal, D. (2016). *Microencapsulación de polifenoles contenidos en jugo de Zapote negro (Diospyros digyna Jacq.) utilizando almidones modificados de arroz mediante secado por aspersión para su incorporación en un yogur natural*. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana] <https://cdigital.uv.mx/handle/123456789/42615>.
- Deshaware, S., Gupta, S., Singhal, R., & Variyar, P. (2019). Influence of different pasteurization techniques on antiadiabetic, antioxidant and quality of debittered bitter gourd juice during. *Journal Food Chemistry*, 285. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.140>.
- Díaz, L. & Perez, R., (2018). *Efecto de la pasteurización en el contenido de antocianinas y fenoles totales en el jugo de uva (Vitis vinífera L.)*. [Tesis de pregrado, Universidad Señor de Sipán]. <https://hdl.handle.net/20.500.12802/5773>
- Díaz, K., & Pilojo, L. (2017). *Determinación del efecto antioxidante de la cascarrilla de cacao*

- en polvo sobre la lipoperoxidación en sistemas biológicos*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/28378>
- Díaz, R., Luján, V., Ramírez, L., Olano, M., Vargas, A., Rojas, M., & Linares, G. (2017). Fenólicos a partir de residuos de café: Optimización del proceso de extracción. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 19(1), 405–410. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.315>
- Encina, C., Bernal, A. & Rojas, D., (2013). Efecto de la temperatura de pasteurización y proporción de mezclas binarias de pulpa de carambola y mango sobre su capacidad antioxidante lipofílica. *Revista de la facultad de Ingeniería y Arquitectura*. 197-219 <https://doi.org/10.26439/ing.ind2013.n031.23>
- Esquivel, B., Ochoa, L., & Rutiaga, O. (2015). Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 1–14. <https://doi.org/10.4270/ruc.2010216>
- Fernández, M. (2018). *Evaluación del efecto protector de dos biopolímeros sobre la estabilidad fisicoquímica de microcápsulas de col morada*. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana]. <https://cdigital.uv.mx/handle/1944/49239?locale-attribute=en>
- Ferrer, B., & Dalmau, J. (2001). Alimentos funcionales: probióticos. *Acta Pediátrica Española*, 59(3), 150–155. [http://www.inocua.org/site/Archivos/investigaciones/Alim funcional probioticos.pdf](http://www.inocua.org/site/Archivos/investigaciones/Alim%20funcional%20probioticos.pdf)
- Flores, I., & Jiménez, M. (2013). Microencapsulación de compuestos activos con quitosano. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2016.02.039>

- Franco, G., & Suárez, K. (2014). *Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de una bebida láctea elaborada a base de residuos agroindustriales de cacao, café y naranja*. [Tesis de pregrado, Escuela Politecnica del Litoral].
<http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/30630>
- Ghorbani, M., (2016). Evaluation the effect of different solvents on total phenolic content and antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) pod extract. *Food Science and Technology*, 14, Issue 64. <https://fsct.modares.ac.ir/article-7-7087-en.html>
- Gomez, J., Comunian, T., Montero, P., Ferrero, R., & Favoro, C., (2016). Encapsulation o fan astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. *Journañ Food Hydrocolloids*, 61, 155-162.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.005>
- Gonzáles, D. (2013). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de alimentos funcionales: una aproximación desde la nutrición animal*. [Tesis de pregrado, Corporacion Universitaria Lasallista].
http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1032/1/Aprovechamiento_residuos_agroindustriales_producción_alimentos_funcionales.pdf
- Gonzáles, S. (2016). *Evaluación del efecto de la digestión in-vitro y capacidad antioxidante en jugo de naranja adicionado con subproducto*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Particular de Loja]. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/16257>
- Guerra, C. (2017). *Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos del mortiño (Vaccinium floribundum, kunth)*. [Tesis de pregrado, Universidad de la Amazonia]. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/7946>
- Gutiérrez, D., Ortiz, C., & Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante

- en malezas usadas para alimentación animal. *Centro Nacional de Metrología*, 1–5.
- Hamid, Thakur, N. & Thakur, A. (2020). Microencapsulation of wild pomegranate flaved phenolics by lyophilization: Effect of maltodextrin concentration, structural morphology, functional properties, elemental composition and for development of functional beverage. *Journal Food Science and Technology*. 133.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110077>
- Hernández, M. (2014). *Obtención de ingredientes funcionales para la formulación de alimentos enriquecidos con extractos vegetales. Influencia del tratamiento de conservación sobre algunos compuestos bioactivos*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Valencia]. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/48482>
- Hernández, J. (2015). *Obtención a escala laboratorio de polifenoles a partir de la cáscara de cacao y su utilidad como aditivo conservante de aceites vegetales comestibles*. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politecnica del Litoral].
<http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/38266?locale-attribute=en>
- Hernández, R., & Jiménez, M., (2018). Coacervación compleja: una alternativa como un método de microencapsulación. *Revista tsia*, 11, 22-27.
<https://tsia.udlap.mx/coacervacion-compleja-una-alternativa-como-un-metodo-de-microencapsulacion/>
- Herrera, Y. (2013). *Microencapsulación de compuestos con poder antioxidante extraídos a partir de semillas sin fermentar de Theobroma cacao y Theobroma grandiflorum* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Colombia].
<http://www.bdigital.unal.edu.co/39585/>
- Jimenez, J. (2013). *Efecto antioxidante in vitro de flavonoides totales del extracto fluido de*

- hojas de Sambucus peruviana H.B.K (Sauco) frente al 2,2.Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH)*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Trujillo].
<https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9527>
- Jofré, V. (2020). *Subproductos agroindustriales, fuentes de compuestos bioactivos*. [Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria].
<http://repositorio.umaza.edu.ar/handle/00261/2173>
- Kaderides, K., Mourtzinou, I., & Goula, A. 2019. Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by product and their incorporation in cookies. *Journal Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125849>
- Lara, C. (2016). *Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos de tomate de árbol (Cyphomandra betacea) variedad gigante anaranjado*. [Tesis de pregrado, Universidad de las Américas]. <http://dspace.udla.edu.ec/jspui/handle/33000/6159>
- Lee, Y., Ganesan, P., & Kwak, H. (2013). Properties of milk supplemented with peanut sprout extract microcapsules during storage. *Asian Australas Journal of Animal Sciences*, 26(8), 1197–1204.
- Luna, J., López, J., Jiménez, O., & Luna, L. (2016). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión. *Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5(10).
- Martin, M., Morales, M., Gallardo, V., & Ruiz, M. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*, 50(1), 43–50.
- Martínez, S, Gonzales, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides propiedades y antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17, 271–278. https://doi.org/10.3305/nutr_hosp.v17in06.3338

- Martínez, Silvia. (2017). *Estudio del efecto de la microencapsulación sobre la bioaccesibilidad gástrica in vitro de compuestos bioactivos de taxo (Passiflora mollissima), mora (Rubus glaucus benth) y mortiño (Vaccinium floribundum kunth)*. [Tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional].
<https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17357>
- Matute, J., & Noblecilla, C. (2019). *Estudio comparativo de polifenoles totales y capacidad antioxidante de kiwi (Actinidia deliciosa) y salak (Salacca zalacca)*. [Tesis de pregrado - Universidad de Guayaquil].
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/40788/1/BCIEQ-T-0391>
- Muñoz, C. (2016). *Diseño de un producto biofuncional a base de lulo (Solanum quitoense Lam.) con aplicación en alimentos*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/59587>
- Mojtaba, D., & Mohammad, A. 2020. Improving functionality, bioavailability, nutraceutical and sensory attributes of fortified foods using phenolics-loaded nanocarriers as natural ingredients. *Journal Food Research International*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109555>
- Moncayo, P. (2016). *Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos de tomate de árbol (Cyphomandra betacea) variedad gigante anaranjado*. [Tesis de pregrado, Universidad de la Amazonia]. <https://fsct.modares.ac.ir/article-7-7087-en.html>
- Nava, E., Michelena, G., Iliná, A., & Martínez, J. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia: De La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (66), 64–70.

- Navarrete, Y. (2017). *Determinación de la calidad fenólica total de la pulpa del café Coffea arabica*. L. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica Particular de Loja].
<http://dspace.utpl.edu.ec/handle/20.500.11962/21358>
- Stanisavljevic, N., Ilic, M., Jovanovic, Z., Cupic, T., Dabić, D., Natić, M., Tesić, Z. & Radović, T. (2015). Identification of seed coat phenolic compounds from differently colored pea varieties and characterization of their antioxidant activity. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 67(3), 829-840, 2015.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Functional foods: Fiber, Prebiotics, Probiotics and Simbiotics. *Diaeta*, 25(121), 20–33.
<https://doi.org/0328-1310>
- Ordoñez, L., Oderiz, M., & Rodríguez, R. (2011). Micronutrient contents in organic and conventional tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). In *International Journal of Food Science & Technology*, (46). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02648.x>
- Osorio, O., Rodríguez, G., Castellanos, F., & Chávez, A. (2016). Procesamiento de Arvejas (*Pisum sativum* L.). Parte 3: Cinética de Pérdida de Agua en Chips de Arveja en Condiciones de Fritura Convencional y a Vacío. *Información Tecnológica*, 27(4), 33–42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000400004>
- Palomino, Lady, Biasetto, C., Araujo, A., & Del Bianchi, V. (2015). Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry's residues through solid state fermentation by *Penicillium purpurogenum*. *Food Science and Technology*, 35(4), 704–711.
- Pantoja, D. C., Osorio, O., Mejia, D. F., & Váquiro, H. A. (2016). Procesamiento de Arvejas (*Pisum sativum* L.). Parte 1: Modelado de la Cinética de Secado por Capa Delgada de Arveja, Variedades Obonuco Andina y Sureña. *Información Tecnológica*, 27(1), 69–

80. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000100009>
- Pantoja, D., Muñoz, K., & Checa, O. (2014). Evaluación y correlación de componentes de rendimiento en líneas avanzadas de arveja *pisum sativum* con gen afila. *Revista De Ciencias Agrícolas*, 31(2), 24–39.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v31n2/v31n2a03.pdf>
- Parra, R. (2010). Revisión: Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2).
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/25055/37055>
- Peñaranda, G., & Gelves, D. (2013). La Producción de arveja (*Pisum Sativum*) en la vereda Monteadentro, provincia de Pamplona, Norte de Santander. *Revista Face*, 11, 43–56.
Retrieved from
http://ojs.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/FACE/article/view/334
- Pérez, J., & Saura, F. (2007). Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. *V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, 2007*, 1150–1160.
- Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juice and beverages: A literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12270>
- Pinchao, Y. A., Ordoñez, L. E., & Osorio, O. (2019). Evaluation of the effect of different factors on the ultrasound assisted extraction of phenolic compounds of the pea pod. *DYNA (Colombia)*, 86(210), 211–215. <https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.72880>
- Queiroz, W., Wurlitzer, N., Oliveira, A., Comunian, T., Rocha, M., Lopes, A., Rodrigues, H.,

- Ribeiro, H., Wilane, R., & Machao, P. (2020). Complex coacervates of cashew gum and gelatin as carriers of green coffee oil: the effect of microcapsule application on the rheological and sensorial quality of fruit juice. *Journal Food Research International*, 131. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109047>
- Rabie, M. A., Soliman, A. Z., Diaconeasa, Z. S., & Constantin, B. (2014). Effect of Pasteurization and Shelf Life on the Physicochemical Properties of Physalis (Physalis peruviana L.) Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1051–1060. doi:10.1111/jfpp.12320
- Rojas, M. (2016). *Evaluación técnica de microencapsulación de compuestos bioactivos empleando los métodos de coacervación y gelificación*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55887>
- Reyes, G., (2013). *Efecto de pasteurización y almacenamiento en la estabilidad química y antioxidante de jugo de açaí (Euterpe oleracea Mart.)*. [Tesis de pregrado, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. http://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/AGRARIAS_7/AGROINDUSTRIA/85.pdf
- Robles, N. (2016). *Efecto del tiempo y temperatura de pasteurización en el contenido de vitamina c y capacidad antioxidante en zumo de oca (Oxalis tuberosa Mol.)*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. <http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3592>
- Rodríguez, A., (2011). *Elaboración de una bebida a base del fruto falso de marañón (Anacardium occidentale L.) adicionada con betalainas*. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana].

<https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46949/RodriguezEsquivelAnaOlivia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Rodríguez, P., Urías, V., Rangel, D., Basilio, J., Suarez, A., Báez, J., Zavala, F., & Niño, G. (2020). Efecto de termosonicación y pasteurización sobre propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y nutraceuticas en bebidas de maíz. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 23(1), pág. 92-101.

<https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/1204/489>

Rodríguez, Z., Robaina, M., Jáuregui, U., Blanco, A., & Rodríguez, J. (2014). Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 45(January 2015), 139–147.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2013.12.003>

Rojas, A., Flórez, C. & López, D. (2019). Prospectiva de aprovechamiento de algunos residuos agroindustriales. *Revista cubana de Química*. 31 (1).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-54212019000100031&script=sci_arttext&tlng=en

Romero, J., Bernal, L. & Diaz, C. (2014). Influencia de tratamientos térmicos sobre la capacidad de antioxidante de espinaca (*Spinacea oleracea L.*). *Acta Horti*. 1016, 109-112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1016.13>

Santacruz, V., Laguna, J., & Santacruz, C. (2013). Diseño de un jugo mínimamente procesado adicionado con micro y nano cápsulas de ácido fólico y su uso como vehículo para la ingesta en ratas wistar. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(2), 177–191.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other

- oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology: Vol. 299. Oxidants and Antioxidants Part A* (pp. 152–178).
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Saponjac, V., Cetkovic, G., Canadanovic, J., Pajin, B., Djilas, S., Petrovic, J., Loncarevic, I., Stajcic, S., & Vulic, J. (2016). Sour Cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Journal Food Chemistry*. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.03.082
- Tobón, N. (2015). *Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la pulpa de café (Coffee arabica L.) variedad Castillo*. [Tesis de maestría, Corporacion Universitaria Lasallista].
- Tovar, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por dpgh y abts de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera*. [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de Pereira]. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/3636>
- Trindade, R., & Zapata, C. (2015). Microencapsulación por secado por pulverización de compuestos bioactivos extraídos de mora (*rubus fruticosus*). *Revista de ciencia y tecnología de alimentos*. 53, 1515-1524. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2111-x>
- Troszyńska, A., Estrella, I., López-Amóres, M. L., & Hernández, T. (2002). Antioxidant Activity of Pea (*Pisum sativum* L.) Seed Coat Acetone Extract. *LWT - Food Science and Technology*, 35(2), 158–164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0831>
- Valencia, A. A., Timaná, Y. C., & Checa, O. C. (2013). Revista de ciencias agrícolas. In *Revista de Ciencias Agrícolas*, (29). Pasto: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas.
- Valencia, C. & Guevara, A. (2013). Variación de la capacidad antioxidante y compuestos

- bioactivos durante el procesamiento del néctar de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 79 (2).
- Valenzuela, A., Sanhueza, J., & Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y Aceites*, 54(3), 295–303.
<https://doi.org/10.3989/gya.2003.v54.i3.245>
- Valero, Y., Colina, J., & Ineichen, E. (2012). Efecto del procesamiento sobre la capacidad antioxidante de la ciruela criolla (*Prunus domestica*). *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 62(4), 363–369.
- Wibowo, S., Essel, E., De Man, S., Bernaert, N., Van, B., Grauwet, T., Van, A., & Hendrickx, M. (2019). Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. *Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies* 54.
DOI: 10.1016/j.ifset.2019.03.004
- Zielinski, H., & Kozłowska, H. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48(6). doi:10.1021/jf990619o
- Xu, B., Yuan, S. H., & Chang, K.-C. (2007). Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. In *Journal of food science*, (72). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x>

ANEXOS

Anexo A: Cuantificación de contenido de fenoles totales

➤ **Concentración de solución madre de ácido gálico: 1 mg/mL**

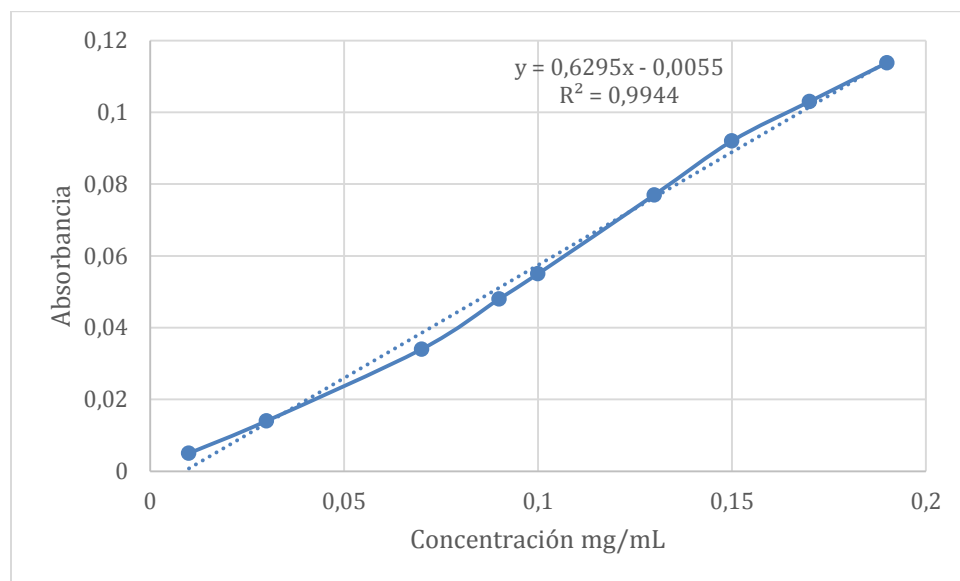
Tabla Estándares de ácido gálico

estándares	alícuota (mL)	aforo (mL)	concentración (mg/mL)	Absorbancias
E1	0,1	10	0,01	0,005
E2	0,3	10	0,03	0,014
E3	0,5	10	0,05	0,022
E4	0,7	10	0,07	0,034
E5	0,9	10	0,09	0,048
E6	1	10	0,1	0,055
E7	1,3	10	0,13	0,077
E8	1,5	10	0,15	0,092
E9	1,7	10	0,17	0,103
E10	1,9	10	0,19	0,114

Fuente: Esta investigación.

➤ Curva de calibración

Figura Curva de calibración de fenoles totales



➤ Cuantificación del contenido fenólico de extracto

De acuerdo con la ecuación de la recta se calcula la concentración del contenido fenólico en los extractos, como ejemplo se tomó el primer valor de la tabla 2.

$$y = mx + b$$

Donde:

y= absorbancia

m= pendiente

x= concentración

b= intersección

se despeja la formula

$$x = \frac{0,071 + 0,0055}{0,6295 \text{ mL/mg}} = 0,122$$

la extracción se llevó a cabo con un volumen de 12,5 mL de solvente

0,124 mg.....1 mL

x 12,5 mL de solvente

X= 1.519 mg EAG

los resultados se expresaron en mg EAG/g de base seca

1,55 mg EAG.....0,25 g de muestra

x 1 g

x=6,076 mg EAG/g.b.s. s

➤ **Cuantificación de fenoles para extracto**

muestra #	peso (g) muestra	absorbancia	(y+b)/ m	mg EAG/1 g (12.5ml)	mg EAG/ g.b.s.	promedio mg/g.b.s.
1	0,25	0,071	0,122	1,525	6,076	6,050
2	0,25	0,067	0,115	1,439	5,759	
3	0,25	0,074	0,126	1,578	6,315	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de fenoles para microcápsulas**

muestra #	peso (g) muestra	absorbancia	(y+b) /m	mg EAG/1 g (5mL)	mg EAG/ g.b.s.	promedio mg/g.b.s.
1	0,1	0,064	0,110	0,552	5,520	5,282
2	0,1	0,062	0,107	0,536	5,361	
3	0,1	0,057	0,099	0,496	4,964	

Fuente: Esta investigación.

➤ Cuantificación de fenoles para néctar de lulo día 0

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b)/m	Mg AG/ g.b.f.	mg EAG/ 100 g.b.f.	Promedio mg EAG/ 100 g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	52,125
		2	0,267	0,076	0,129	0,486	48,550	
		3	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	
	Nm	1	0,267	0,077	0,131	0,491	49,146	52,919
		2	0,267	0,084	0,142	0,533	53,316	
		3	0,267	0,089	0,150	0,563	56,295	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	53,713
		2	0,267	0,080	0,136	0,509	50,933	
		3	0,267	0,089	0,150	0,563	56,295	
	N1m	1	0,267	0,105	0,176	0,658	65,826	63,244
		2	0,267	0,100	0,168	0,628	62,847	
		3	0,267	0,097	0,163	0,611	61,060	
Tratamiento 2 65°C * 204 s	N2	1	0,267	0,094	0,158	0,593	59,273	59,273
		2	0,267	0,098	0,164	0,617	61,656	
		3	0,267	0,090	0,152	0,569	56,890	
	N2m	1	0,267	0,096	0,161	0,605	60,465	62,649
		2	0,267	0,100	0,168	0,628	62,847	
		3	0,267	0,103	0,172	0,646	64,635	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de fenoles totales para néctar de lulo 7 días**

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b) /m	Mg AG/ g.b.f.	mg EAG/ 100 g.b.f.	Promedio mg EAG/ 100 g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	51,132
		2	0,267	0,076	0,129	0,486	48,550	
		3	0,267	0,080	0,136	0,509	50,933	
	Nm	1	0,267	0,077	0,131	0,491	49,146	50,933
		2	0,267	0,084	0,142	0,533	53,316	
		3	0,267	0,079	0,134	0,503	50,338	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0,267	0,080	0,136	0,509	50,933	50,536
		2	0,267	0,084	0,142	0,533	53,316	
		3	0,267	0,074	0,126	0,474	47,359	
	N1m	1	0,267	0,092	0,155	0,581	58,082	59,273
		2	0,267	0,100	0,168	0,628	62,847	
		3	0,267	0,090	0,152	0,569	56,890	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de fenoles totales para néctar de lulo 14 días**

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b)/m	Mg AG/ g.b.f.	mg EAG/ 100 g.b.f.	Promedio mg EAG/ 100 g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0,267	0,087	0,147	0,551	55,103	52,323
		2	0,267	0,079	0,134	0,503	50,338	
		3	0,267	0,081	0,137	0,515	51,529	
	Nm	1	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	51,330
		2	0,267	0,082	0,139	0,521	52,125	
		3	0,267	0,075	0,128	0,480	47,955	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0,267	0,082	0,139	0,521	52,125	51,529
		2	0,267	0,076	0,129	0,486	48,550	
		3	0,267	0,085	0,144	0,539	53,912	
	N1m	1	0,267	0,095	0,160	0,599	59,869	60,266
		2	0,267	0,090	0,152	0,569	56,890	
		3	0,267	0,102	0,171	0,640	64,039	

Fuente: Esta investigación.

Anexo B. Actividad antioxidante por el método DPPH

➤ **Concentración de solución madre de Trolox: 495 $\mu\text{M/L}$**

Tabla Estándares de Trolox para DPPH

estándares	alícuota (mL)	aforo (mL)	concentración ($\mu\text{M/L}$)	Absorbancias
E1	1.01	10	50	0,850
E2	2.02	10	100	0,735
E3	4.04	10	200	0,650
E4	6.06	10	300	0,539
E5	8.07	10	400	0,451
E6	10.09	10	500	0,325
E7	12.11	10	600	0,225
E8	14.13	10	700	0,175
E9	16.15	10	800	0,090

Fuente: Esta investigación.

➤ **Curva de calibración para DPPH**

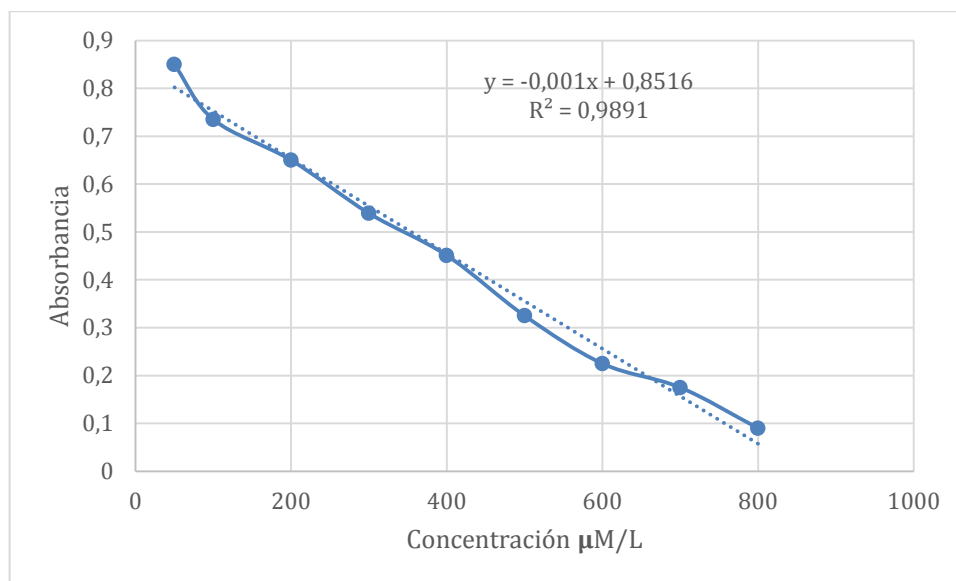


Figura Curva de calibración para DPPH

➤ **Cuantificación del contenido actividad antioxidante de extracto**

De acuerdo con la ecuación de la recta se calcula la concentración del contenido fenólico en los extractos, como ejemplo se tomó el primer valor de la tabla 2.

$$y = mx + b$$

donde:

y= absorbancia

m= pendiente

x= concentración

b= intersección

se despeja la formula

$$x = \frac{0,410 - 0,8516}{-0,001 \text{ L}/\mu\text{M}} = 441,600 \mu\text{M/L}$$

la extracción se llevó a cabo con un volumen de 12.5 mL de solvente

441,600 μM E. T/L1000 L

x 12,5 mL de solvente

X= 5.52 μM / g.b.s.

los resultados se expresaron en mg EAG/g de base seca

5,52 μM / g.b.s.0,25 g de muestra

x 1 g

x= 22,080 μM / g.b.s.

Cuantificación de actividad antioxidante para extracto

muestra #	peso (g) muestra	absorbancia	(y+b) /m	μM E.T/1g (12.5ml)	μM E.T / g.b.s.	promedio mM E.T / g.b.s.	promedio mM E.T / g.b.s.
1	0,25	0,410	441,6	5,52	22,080	0,022	0,023
2	0,25	0,370	481,6	6,02	24,080	0,024	
3	0,25	0,375	476,6	5,95	23,830	0,023	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de actividad antioxidante para microcápsulas**

muestra #	peso (g) muestra	absorbancia	(y+b)/m	μM E.T/1g (5ml)	μM E.T / g.b.s.	mM E.T / g.b.s.	promedio mM E.T / g.b.s.
1	0,1	0,420	431,6	2,158	21,580	0,021	0,022
2	0,1	0,376	475,6	2,378	23,780	0,023	
3	0,1	0,392	459,6	2,298	22,980	0,022	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de actividad antioxidante para néctar de lulo día 0**

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b)/m	μM E.T /g.b.f.	Promedio μM E.T /g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0.267	0,198	653,600	2,451	2,442
		2	0.267	0,193	658,600	2,470	
		3	0.267	0,210	641,600	2,406	
	Nm	1	0.267	0,200	651,600	2,444	2,414
		2	0.267	0,204	647,600	2,429	
		3	0.267	0,220	631,600	2,369	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0.267	0,212	639,600	2,399	2,445
		2	0.267	0,189	662,600	2,485	
		3	0.267	0,198	653,600	2,451	
	N1m	1	0.267	0,198	662,600	2,485	2,494
		2	0.267	0,175	676,600	2,537	
		3	0.267	0,196	655,600	2,459	
Tratamiento 2 65°C * 204 s	N2	1	0.267	0,190	661,600	2,481	2,464
		2	0.267	0,186	665,600	2,496	
		3	0.267	0,208	643,600	2,414	
	N2m	1	0.267	0,195	656,600	2,462	2,506
		2	0.267	0,180	671,600	2,519	
		3	0.267	0,175	676,600	2,537	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de actividad antioxidante para néctar de lulo 7 días**

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b)/m	μM E.T /g.b.f.	Promedio μM E.T /g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0.267	0,253	598,600	2,245	2,237
		2	0.267	0,269	582,600	2,185	
		3	0.267	0,243	608,600	2,282	
	Nm	1	0.267	0,231	620,600	2,327	2,297
		2	0.267	0,251	600,600	2,252	
		3	0.267	0,235	616,600	2,312	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0.267	0,258	593,600	2,226	2,265
		2	0.267	0,237	614,600	2,305	
		3	0.267	0,248	603,600	2,264	
	N1m	1	0.267	0,23	621,600	2,331	2,295
		2	0.267	0,25	601,600	2,256	
		3	0.267	0,239	612,600	2,297	

Fuente: Esta investigación.

➤ **Cuantificación de actividad antioxidante para néctar de lulo 14 días**

Tipo de pasteurización	Tipo de néctar	Replica	Concentración néctar (g/ml)	ABS	(y+b)/m	μM E.T /g.b.f.	Promedio μM E.T /g.b.f.
Sin pasteurizar	N	1	0.267	0,264	587,600	2,204	2,207
		2	0.267	0,252	599,600	2,249	
		3	0.267	0,273	578,600	2,170	
	Nm	1	0.267	0,264	587,600	2,204	2,175
		2	0.267	0,275	576,600	2,162	
		3	0.267	0,276	575,600	2,159	
Tratamiento 1 85°C * 30 s	N1	1	0.267	0,230	621,600	2,331	2,307
		2	0.267	0,233	618,600	2,320	
		3	0.267	0,246	605,600	2,271	
	N1m	1	0.267	0,22	631,600	2,369	2,329
		2	0.267	0,235	616,600	2,312	
		3	0.267	0,237	614,600	2,305	

Fuente: Esta investigación.

Anexo C. Cálculo de tiempo de retención

➤ Determinación del caudal o flujo en el equipo

Tabla Fórmulas para Determinar el Tiempo de Retención

DETERMINACIÓN DEL CAUDAL		
Ensayos llenar probeta 100 ml	Bomba positiva rpm= tiempo en segundos	Bomba positiva rpm= tiempo en segundos
1		
2		
3		
4		
5		

$$Q = V / t$$

Donde:

Q = caudal

V = Volumen en cm³

t = tiempo en segundos

$$Q = A * V$$

Donde:

Q = caudal

V = Velocidad en cm / segundo

A = área trasversal

$$A = \pi * r^2$$

, donde r = Radio del tubo.

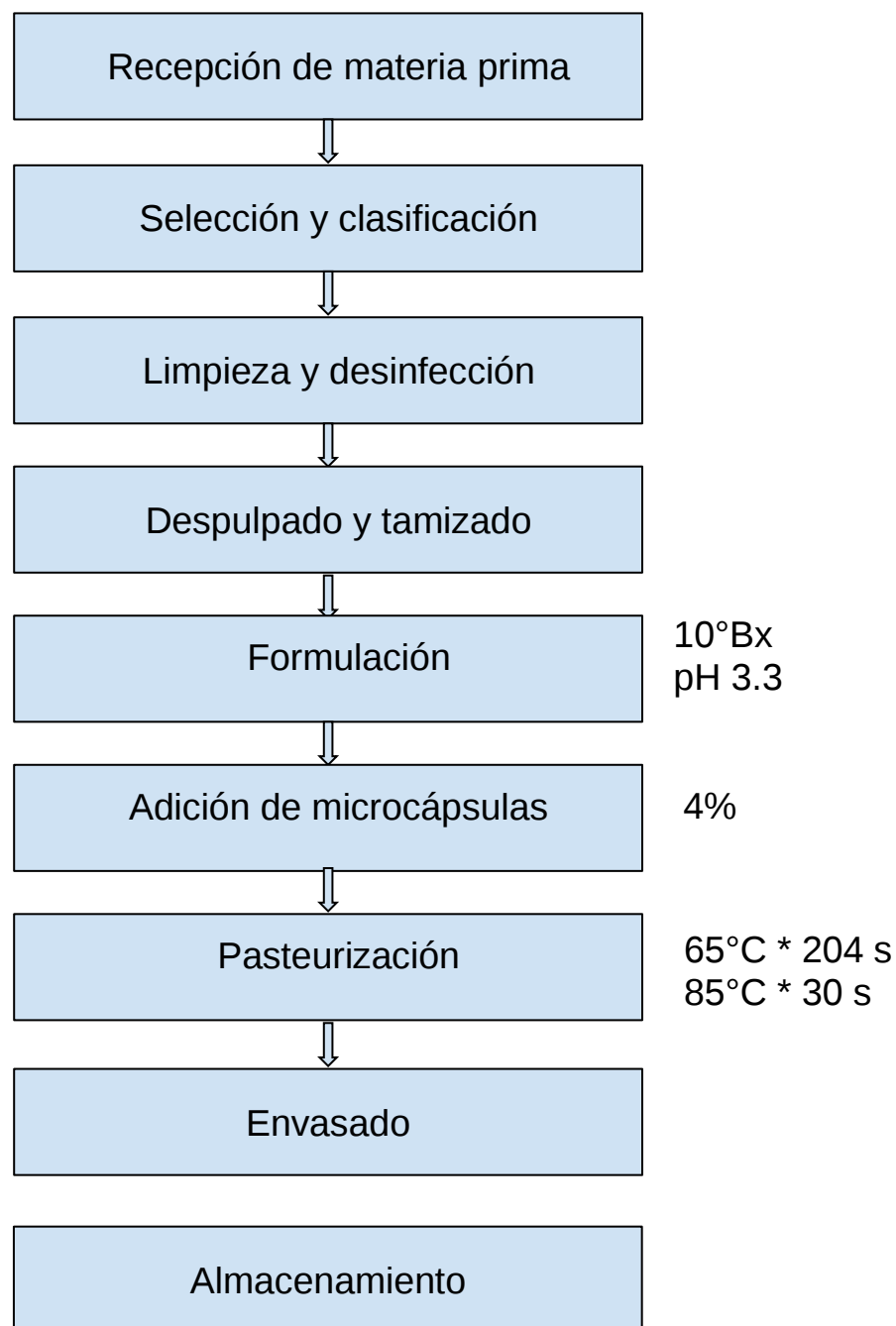
$$V = x/t$$

Donde:

V= Velocidad

x = Distancia en cm

t = Tiempo en segundos

Anexo D. Diagrama de flujo elaboración de néctar de lulo con adición de microcápsulas.

Fuente: Esta investigación.