

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MICROENCAPSULADAS DE MORA (RUBUS GLAUCUS BENTH)**

**EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE CONTENT OF MICROENCAPSULATED BLACKBERRY ANTHOCYANINS (RUBUS GLAUCUS BENTH).**

Vanessa Monserrath, Bastidas Bastidas<sup>1</sup>; PhD. Orestes Darío, López Hernández <sup>2</sup>; Lcdo. Yoel Hernández Navarro<sup>3</sup>

Grupo de Investigación AndesBioactivos<sup>1</sup>

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB)<sup>2,3</sup>

Carrera de Ingeniería Bioquímica<sup>1</sup>. Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador), Email: vanebastidas688@gmail.com

Recibido: 29 de septiembre de 2020

Aceptado: 30 de marzo de 2021

**Abstract**

The research presented was based on the extraction, microencapsulation and quantification of flavonoids (anthocyanins) from blackberries (*Rubus glaucus* Benth). The antioxidant properties of the plant under study were also evaluated. Three microencapsulations were obtained using 3 polymers as encapsulating agent: maltodextrin, that is a mixture in proportions (1:1) of maltodextrin-gum arabic and concentrated whey protein, where through the analysis of variances of efficiency of 90.81%, 90.64% and 89.73%, were achieved respectively. With a spectroscopic analysis it was demonstrated that the anthocyanins of blackberries were covered by the polymers, obtaining a form of microspheres. To evaluate the antioxidant properties, a live analysis was carried out using *S. cerevisiae*, where through the growth curves it was verified that each microencapsulated had antioxidant activity and that they were within the curves containing vitamin C as a strong antioxidant.

**Keywords:** antioxidant activity, flavonoids, anthocyanin microencapsulated, *Rubus glaucus* Benth, spray drying.

## 1. INTRODUCCIÓN

El ser humano consume productos alimenticios como frutas y hortalizas que por su riqueza en vitaminas, fibra y minerales los hace necesarios para obtener energía y nutrientes precisos para subsistir; a pesar de que la diversidad vegetal es extensa, las frutas y hortalizas comparten una característica en común: los flavonoides (INIAP, 2013). Los flavonoides son compuestos químicos que comparten en común un esqueleto difenilpirano, de acuerdo con sus características funcionales se clasifican en: flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas (Martínez, 2015). Dentro de las antocianidinas se encuentran las antocianinas las cuales están formadas por una molécula de antocianidina que es la aglicona a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico (Garzón, 2008).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos naturales ampliamente distribuidos en el reino vegetal, hidrosolubles lo que facilita su incorporación a sistemas alimentarios acuosos (Kong, 2003). El interés por estos pigmentos antociánicos ha incrementado con el pasar de los años, no solo por el color que confieren a frutas y hortalizas si no por sus propiedades antioxidantes, lo que les permite participar en la reducción de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo (Shipp, 2010).

La mora (*Rubus glaucus* Benth) es rica en antocianinas y carotenoides, además contiene una gran cantidad de vitamina C y posee sustancias antioxidantes (Yashin, 2017). Este producto es cotizado nacional e internacionalmente y por ello se han desarrollado técnicas

en diferentes áreas industriales para lograr una extensión de vida útil de los alimentos, una de ellas es la microencapsulación que tiene como objetivo principal, lograr la estabilidad de los componentes y retener las características sensoriales y biofuncionales de la fruta, conjuntamente facilitando el transporte y el almacenamiento de las mismas (Sortino, 2016).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Materia Prima

La materia prima utilizada en este proyecto de investigación fue mora (*Rubus glaucus* Benth) conjuntamente de reactivos como ácido clorhídrico (1mol/L) y etanol 96% junto con polímeros Maltodextrina DE 10 (MD), mezcla de Maltodextrina con Goma arábiga (MD-G) y proteína concentrada de suero (PCS) para las respectivas matrices de microencapsulación.

### 2.2. MÉTODOS

#### Recolección de la planta

Los ejemplares de mora (buen color, sin presentar daño físico, libres de deterioro causado por hongos e insectos) fueron recaudados de las coordenadas latitud:  $-1,23333$  y longitud:  $-78,6833$  pertenecientes a la parroquia Quisapincha, cantón Ambato, provincia de Tungurahua.

#### Preparación de materia vegetal

En el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la UTA, las muestras se sometieron a secado en una estufa (Grander MTN, modelo CD-160) a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se extendieron en mallas metálicas con el fin que tengan el espacio apropiado para eliminar la humedad. A las muestras deshidratadas se procedió a triturar en un molino

(IKA, modelo M 20 S003) hasta convertirlas en polvo fino.

### **Obtención extractos vegetales líquidos.**

Para obtener los extractos líquidos de la muestra se realizó una extracción sólido-líquido, en el cual el sólido es la muestra de mora en polvo y el disolvente fue (EtOH: HCl 1 mol/L; relación 85:15), manteniendo la relación 1:20, es decir, por cada 100 g de muestra sólida se emplearon 2000 ml de disolvente. Posteriormente se colocó la solución en un reactor de acero inoxidable de 4 L con su respectiva tapa para evitar la evaporación del disolvente y se mantuvo en estas condiciones a 68 °C durante 60 min en una plancha de calentamiento (Corning PC-620D) con agitación constante. Seguido se procedió a centrifugar para retirar el sedimento en una centrífuga (Rotina 380) a 4000 min<sup>-1</sup> durante 15 min, se colectó el sobrenadante y se llevó a un rotoevaporador (IKA RV 8 V-C) a 60 °C y 160 min<sup>-1</sup> para la evaporación del disolvente. Se midió el volumen total obtenido de concentrado en donde se encuentran las antocianinas y se almacenó a 4 °C en botellas ámbar para evitar el contacto con la luz.

Las antocianinas aisladas suelen ser un poco inestables y susceptibles a la degradación durante el almacenamiento y el procesamiento, por lo que hay que tener especial cuidado con varios factores como temperatura de almacenamiento, concentración, luz, oxígeno, disolventes (Arrazola, 2014).

### **Análisis de concentración de antocianinas de mora.**

La concentración de antocianinas de la muestra de mora, según Abdel-Aal (1999) consta de

realizar mediciones de la absorbancia en un espectrofotómetro (UV-visible) a una longitud de onda de 535 nm, se calculó la concentración a partir de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{A \times MW \times DF \times V \times Wt}{\epsilon \times l}$$

*Ecuación 1: Determinación de concentración de antocianinas*

Donde:

C: concentración de antocianinas mg/L

A: absorbancia obtenida a 535 nm

MW: Peso molecular de cianidina 3-glucósido (449 g/L)

DF: Factor de dilución

V: Volumen final (ml)

Wt: Peso de la muestra (mg)

$\epsilon$ : Absortividad molar (cianidina 3-glucósido 25965 L cm<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>)

l: grosor de la cubeta (cm)

### **Determinación de sólidos totales**

La determinación de sólidos totales se realizó por método gravimétrico en una balanza de humedad (KERN MLS 50-3), con este dato se realizaron los cálculos respectivos y se determinó la cantidad necesaria de cada uno de los componentes de la solución posterior (concentrado de antocianinas, polímero, agua destilada). Con base al valor de humedad de cada muestra se obtuvo el porcentaje de sólidos totales mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Sólidos totales} = 100 - \% \text{ humedad}$$

*Ecuación 2: Determinación de sólidos totales*

### **Análisis de varianza**

Para determinar diferencias significativas de los 3 distintos polímeros en cuanto a concentración y eficiencia de las muestras microencapsuladas de mora (*Rubus glaucus* Benth) se utilizó un

software de análisis de datos estadísticos y gráficos, Statgraphics XVII 64x, empleando como variable independiente los 3 polímeros: Maltodextrina, mezcla de maltodextrina con goma arábica, y proteína concentrada de suero, y como variable dependiente se planteó el valor de la concentración.

### **Caracterización físico-química de la mora**

#### **Determinación de tamaño**

El diámetro y la longitud de la fruta se determinaron con la ayuda de un calibrador pie de rey (marca BP GOLD), en 10 unidades de mora.

#### **Determinación de peso**

Se tomaron 10 unidades de mora y se registraron las lecturas de cada una de ellas utilizando la balanza analítica Ohauspioneer calibrada con una precisión de 0,1 mg.

#### **Determinación de volumen**

Se determinó el volumen de acuerdo al método de inmersión en líquidos, en donde el Principio de Arquímedes enuncia: un cuerpo que se encuentra sumergido total o parcialmente en un fluido experimenta una fuerza ascendente igual al empuje del peso del líquido desplazado, por lo tanto el volumen del líquido que se desplaza es igual al volumen de la parte que está sumergida del cuerpo (Zapata, 2014).

Para ello se utilizó un vaso de precipitación de 50 ml, el cual se colocó sobre un recipiente para recoger el agua desplazada, se introdujo una unidad de mora y el volumen desplazado correspondió a la unidad en cuestión.

#### **Determinación de densidad**

Obtenidos los valores de peso y volumen se aplicó la densidad mediante la ecuación:

$$\rho = m/v$$

Ecuación 3: Determinación de densidad

Donde:

$\rho$  = densidad

m= masa en gramos

v= volumen en mililitros

#### **Determinación de color**

Para realizar la medición del color externo de la mora se requirió de 10 unidades de mora, utilizando un colorímetro marca Lovibond, previamente calibrado. La medición de color se ejecutó en 3 puntos diferentes de la misma muestra, en donde se obtuvo como datos un promedio de los valores de L\* (Luminosidad), a\* (componente rojo-verde), b\* (componente amarillo-azul), croma (saturación) y h (tono), en base al espacio de color CIE Lab.

#### **Determinación de pH**

El potencial de Hidrógeno (pH) se determinó usando un potenciómetro digital (Mettler Toledo – G20), por medida directa en una solución de agua destilada (45 ml) con 5 g de pulpa, siguiendo la metodología descrita por (Choi, 2011).

#### **Determinación de °Brix**

El cociente total de materia seca (generalmente azúcares) se determinó por refractometría, mediante un refractómetro digital ATAGO Pocket-Japón de acuerdo a la norma (INEN-ISO, 2013).

#### **Microencapsulación**

La microencapsulación de antocianinas de mora (*Rubus glaucus*) se realizó en la UTA-FCIAB-UODIDE en el equipo Mini Spray Dryer Büchi B-290. Se revisó que el equipo se mantenga en condiciones óptimas para continuar con el estudio como:

voltaje, presión, compresión de aire, estructura física, etc, además se impusieron las condiciones de operación como: temperatura de entrada (150 °C), y temperatura de salida (90 °C) y bombeo (20 %). Se usaron tres polímeros naturales (agentes encapsulantes) cuya función es recubrir un compuesto: maltodextrina, goma arábica y proteína concentrada de suero empleando una relación antocianinas: polímeros de 20:80. Se mezclaron los extractos líquidos con el polímero y agua destilada, el cual actuó como disolvente creando una mezcla homogénea, se secó por aspersion en el spray dryer y se recolectaron las microesferas obtenidas.

Para verificar la eficiencia de microencapsulación, se mezcló 1,5 g del microencapsulado en 15 ml de agua y en 15 ml de etanol individualmente. Se filtró y al filtrado se le realizó una dilución 1/1000 para medir las absorbancias a una longitud de onda de 526 nm. La concentración de cada dilución se calculó utilizando la Ecuación 1. Para la eficiencia se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% E.E = \frac{\text{Conc en agua (total)} - \text{Conc en etanol(libre)}}{\text{Conc en agua (total)}} * 100$$

*Ecuación 4: Determinación de la eficiencia de microencapsulado*

Donde:

% E.E = porcentaje de eficiencia de microencapsulación.

### **Espectroscopía Infrarroja FT-IR**

En la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Facultad de Ciencia en el Laboratorio de Química Instrumental, el análisis de antocianinas se realizó de la muestra líquida sin microencapsular, los polímeros y las muestras sólidas microencapsuladas, utilizando un espectrofotómetro infrarrojo FT-IR.

Se utilizó el programa Spectra Analysis, el mismo que ayudó a identificar y etiquetar los picos más relevantes, entre otras opciones según lo que se requiera. La longitud de onda en la cual se midió fue de 526 nm. La medición espectrofotométrica de antocianinas de absorción máxima se da entre 520-540 nm en la región visible (Aguilera & Reza, 2011).

### **Evaluación de la actividad antioxidante**

Para evaluar la actividad antioxidante se utilizó una cepa cultivada en medio YPD cuya composición es: glucosa 2 % p/v, extracto de levadura 1 % p/v, peptona 2 % p/v y agar 2 % p/v. Se tomó la cepa de un stock de glicerol congelado, se inocularon en medio YPD líquido y se cultivaron a 28 °C con agitación constante toda la noche. Después los cultivos se diluyeron en medio YPD líquido para que tengan un mayor crecimiento a 28 °C con agitación constante toda la noche, y se inocularon en placas de agar YPD y se incubaron a 28 °C por 72 h para obtener colonias individuales.

Para determinar la concentración correcta de agente oxidante se realizaron varios experimentos.

En 5 ml de medio YPD se inoculó una única cepa de levadura y se incubó durante 6 horas a 28 °C y 40 min<sup>-1</sup>. Posteriormente se realizó una dilución 1/10 del cultivo líquido, se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD, con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 50 mg/ml (1 g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada).

Nuevamente, se tomó 5 µL del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD



pero esta vez con 1 ml de microencapsulado a una concentración de 25 mg/ml (0,5 g de microencapsulado diluido en 20 ml de agua destilada).

Para el control positivo se tomó 5  $\mu$ L del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD y se añadió 1 ml de vitamina C a una concentración de 25 mg/ml (0,5 g de vitamina C diluido en 20 ml de agua destilada).

Para el control negativo se tomó 5  $\mu$ L del cultivo líquido diluido 1/10 y se inoculó en 3 ml de medio YPD.

Se incubaron los 4 tubos durante 18 h a 28 °C y 40 min<sup>-1</sup>.

Las células se recolectaron por centrifugación a 2700 min<sup>-1</sup>, durante 20 min, a 20 °C y se resuspendieron los precipitados en 3 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) pH 7,4.

Se leyó la absorbancia a 600 nm hasta alcanzar un valor de 0,1 (añadiendo alícuotas de suspensión de levadura) para asegurar una concentración homogénea y se incubó durante 30 minutos a 28 °C.

Para el proceso de estrés oxidativo, una vez alcanzada la OD de 0,1 se añadió 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,5 mmol/l para cada concentración de microencapsulado, y también se añadió 1 ml de de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3 mmol/l para cada concentración de microencapsulado.

Posteriormente el peróxido se eliminó mediante centrifugación a 2700 min<sup>-1</sup>, durante 20 min, a 20 °C y se realizó un lavado con PBS, el pellet se resuspendió en medio YPD fresco para su posterior crecimiento registrando la absorbancia a 600 nm.

Los cultivos se distribuyeron en placas de microtitulación de 96 pocillos con un volumen final de 250  $\mu$ l por pocillo, utilizando tres replicas para

cada combinación. El crecimiento de la levadura se controló a 30 °C leyendo la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro con lector de placas de 96 pocillos (Fisherbrand™ accuSkan™ GO) durante 18 h con agitación a 600 min<sup>-1</sup> antes de cada lectura.

El efecto que ejerce el peróxido de hidrógeno y los agentes oxidantes se determinaron mediante el análisis estadístico de la gráfica de curva de relación de crecimiento vs tiempo (Peláez, 2016).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Análisis de varianza

La figura 1 presenta la comparación de concentración de las antocianinas en los microencapsulados de mora.

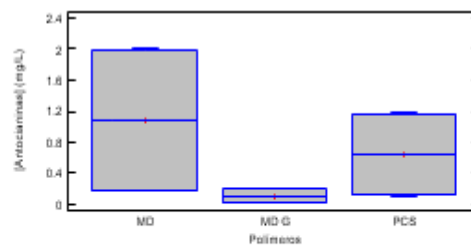


Figura 1. Comparación de concentración de antocianinas en los microencapsulados de mora (*Rubus glaucus* Benth)

De acuerdo con el análisis estadístico realizado en Statgraphics utilizando la prueba de múltiples rangos se indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 3 polímeros dado que el valor P (0,0640) de la prueba F es mayor a 0,05 con un nivel de confianza del 95,0 %. Sin embargo; a través del procedimiento de diferencia menos significativa (LSD) de Fisher, MD obtuvo una media mayor respecto a los dos polímeros restantes.

Se discriminó entre los pares de medias de los gráficos indicando que existe homogeneidad entre MD

y PCS, entre MD-G y PCS, verificado por el gráfico de caja y bigotes ya que cada uno tiende a sobreponerse; sin embargo, no existe homogeneidad entre MD y MD-G.

La figura 2 presenta la eficiencia de microencapsulación de cada agente encapsulante (Maltodextrina, Maltodextrina-Goma arábica y Proteína concentrada de suero).

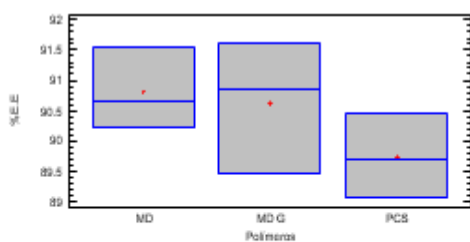


Figura 2. Comparación de la eficiencia de microencapsulación de antocianinas de mora (*Rubus glaucus*)

Como se aprecia, no existe diferencia significativa entre los distintos polímeros en cuanto a sus medias P (0,3173), pero a pesar de que no existe diferencia, se observó que con MD se alcanza un valor de eficiencia de 90,81 %, siendo este superior al que se alcanzó con MD-G de 90,64 % y al obtenido con PCS de 89,73 %, por lo que se selecciona la MD como la matriz que mayor eficiencia de microencapsulación de antocianinas proporciona.

Las eficiencias obtenidas se lograron al utilizar las condiciones correctas, siendo así entre los 3 polímeros utilizados maltodextrina la más alta con una eficiencia del 90,81 %.

La maltodextrina al ser altamente soluble forma partículas huecas en donde el polímero tiene al agente activo atrapado durante el proceso de secado por aspersión (Tonon, 2010).

## Caracterización físico-química de la mora

En la tabla 1 se presentan los resultados de longitud, diámetro, peso, volumen y densidad de la mora (materia prima utilizada), los cuales fueron fundamentales para iniciar el proceso de extracción.

El diámetro de la mora de acuerdo al tamaño (grande, mediano, pequeño) se encuentra entre: >25 mm, 25-18 mm, <18 mm respectivamente; en cuanto a la longitud (grande, mediano, pequeño) se encuentra entre: >25 mm, 25-20 mm, <20 mm respectivamente (INEN, 2010).

El peso de la fruta se encuentra entre 4,16 g, y 5,48 g considerando un tamaño mediano y grande (Montalvo, 2010). El volumen y la densidad se encuentran en un rango entre  $6,81 \pm 1,25 \text{ cm}^3$  y  $1,01 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$  (Ayala, 2013). Se ha demostrado que resultados obtenidos en la investigación (Tabla 1), se encuentran en el rango presentado bibliográficamente, lo que indica que la fruta se encontraba en estado de madurez grado 4.

## Determinación del color de la mora

De acuerdo a los valores presentados en la tabla 2 de los tres puntos distintos de la mora, mediante el programa Encycolorpedia que indica el porcentaje de color que posee la fruta en cuestión, se demostró que el estado de madurez al que pertenece la mora (*Rubus glaucus* Benth) es de grado 4; por medio de la Norma INEN 2427 donde indica los diferentes estados de madurez que posee la fruta a partir del color externo.

## Determinación de ° Brix

Nº	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Peso (g)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Densidad g/cm <sup>3</sup>
1	25,3	18,2	4,60	4,5	1,02
2	24,2	19,4	4,54	4,4	1,03
3	24,3	18,5	4,51	4,5	1,00
4	24,4	18,5	5,44	5,1	1,07
5	25,2	18,4	5,24	5,1	1,03
6	24,5	19,3	4,56	4,5	1,01
7	25,4	19,3	4,46	4,4	1,01
8	24,2	18,4	4,35	4,3	1,01
9	24,4	19,5	5,35	5,2	1,03
10	25,3	18,3	5,47	5,4	1,01
<b>Promedio</b>	<b>24,7</b>	<b>18,78</b>	<b>4,85</b>	<b>4,74</b>	<b>1,02</b>

Tabla 1. Características físicas de la mora (*Rubus glaucus* Benth)

	Estándar	Muestra	Δ
<b>L*</b>	100,0	15,3	-84,7
	100,0	9,7	-90,3
	100,0	10,8	-89,2
<b>a*</b>	0,0	8,2	8,2
	0,0	9,2	9,2
	0,0	7,5	7,5
<b>b*</b>	0,0	5,6	5,6
	0,0	2,1	2,1
	0,0	2,2	2,2
<b>C*</b>	0,0	10,0	10,0
	0,0	9,4	9,4
	0,0	7,8	7,8
<b>h*</b>	0,0	34,5	H* 0,0
	0,0	12,6	H* 0,0
	0,0	16,4	H* 0,0

Tabla 2. Mediciones de color de *Rubus glaucus* Benth

La cantidad de azúcares que posee la mora, fue determinada a partir de los grados Brix, encontrándose como resultado un valor de 10 °Brix.

El ° Brix que se refiere según la norma es mayor o igual a 9 ° Brix, lo que demuestra que el valor especificado se cumple (INEN, 2010).

#### Determinación de pH

Por medio del procedimiento descrito anteriormente se obtuvo un pH de 3,16 indicando que tiene

un pH ácido. Los valores de pH de acuerdo al estado de madurez van desde 2,80 a 2,88 Ayala (2013); sin embargo la disminución de acidez presentado en este estudio (3,16) se debe a la temperatura de almacenamiento de la mora que superó los 8 °C, por lo que el deterioro de la fruta se encontraba en aumento, haciendo que la intensidad de color sea superior Guijarro (2019); provocando un falencia en la detección de grado de la madurez de la misma, sin embargo por resultados físicos se verificó que la mora ocupada tenía grado 4.



### Obtención de extractos de antocianinas

Se siguió el procedimiento detallado por Aranda (2018), para obtener un extracto rico en antocianinas cuya concentración inicial fue de 20,23 mg/L, comparado con estudios realizados por Cuenca (2017), cuya concentración de mora fue 41,64 mg/L se indica que la disminución de la misma puede ser debido a la temperatura de almacenamiento que superó los 8°C y a la

exposición de la luz ya que los pigmentos son fotosensibles creando una degradación de las antocianinas y por ende una baja concentración (Ramirez, Rojas, & Correa, 2006). Se obtuvo un porcentaje de sólidos totales de 30,05.

### Análisis espectroscópico de las antocianinas microencapsuladas

En la figura 3 se muestran los espectros infrarrojos de las antocianinas sin microencapsular y de las microencapsuladas.

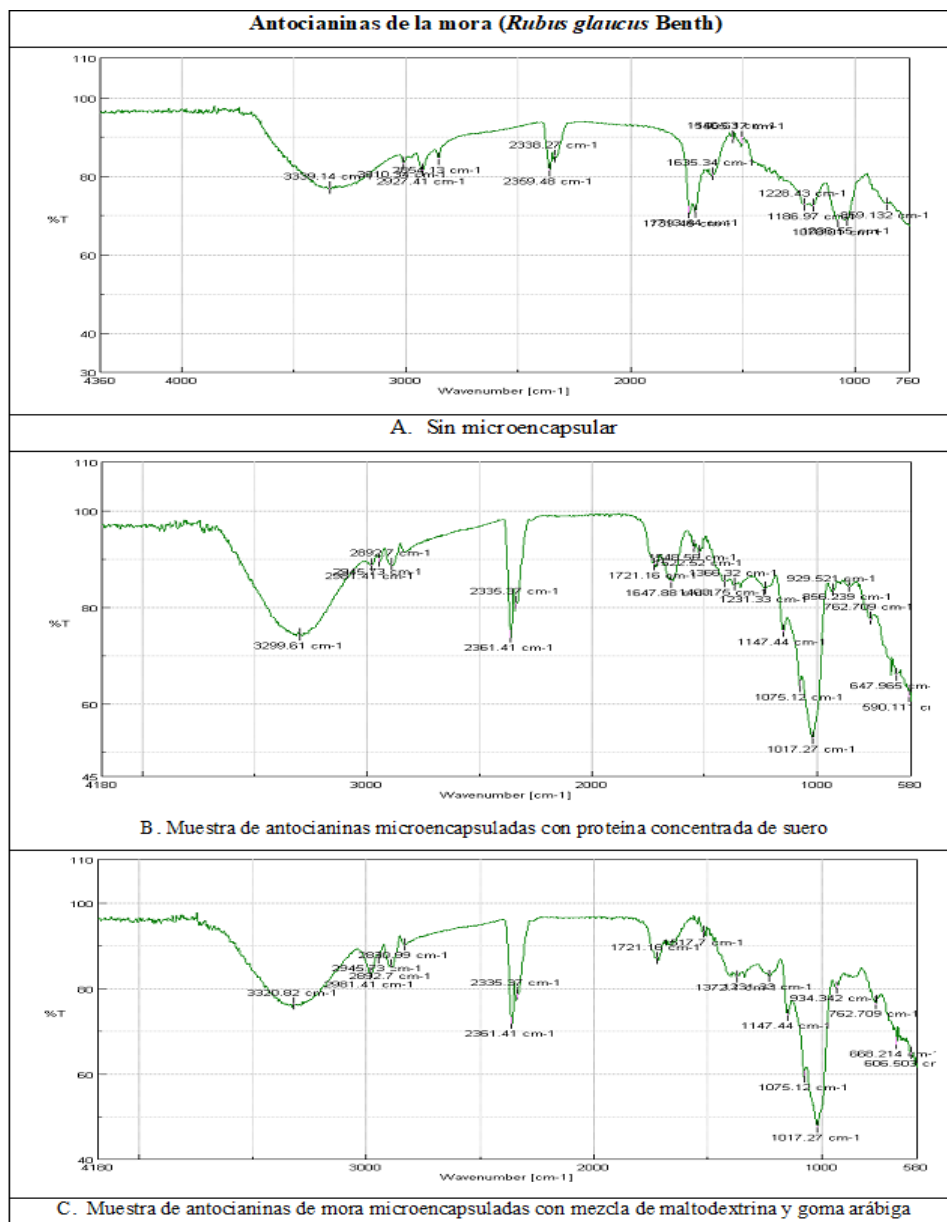


Figura 3. Comparación de los espectros del FTIR de la muestra sin microencapsular y las muestras microencapsuladas

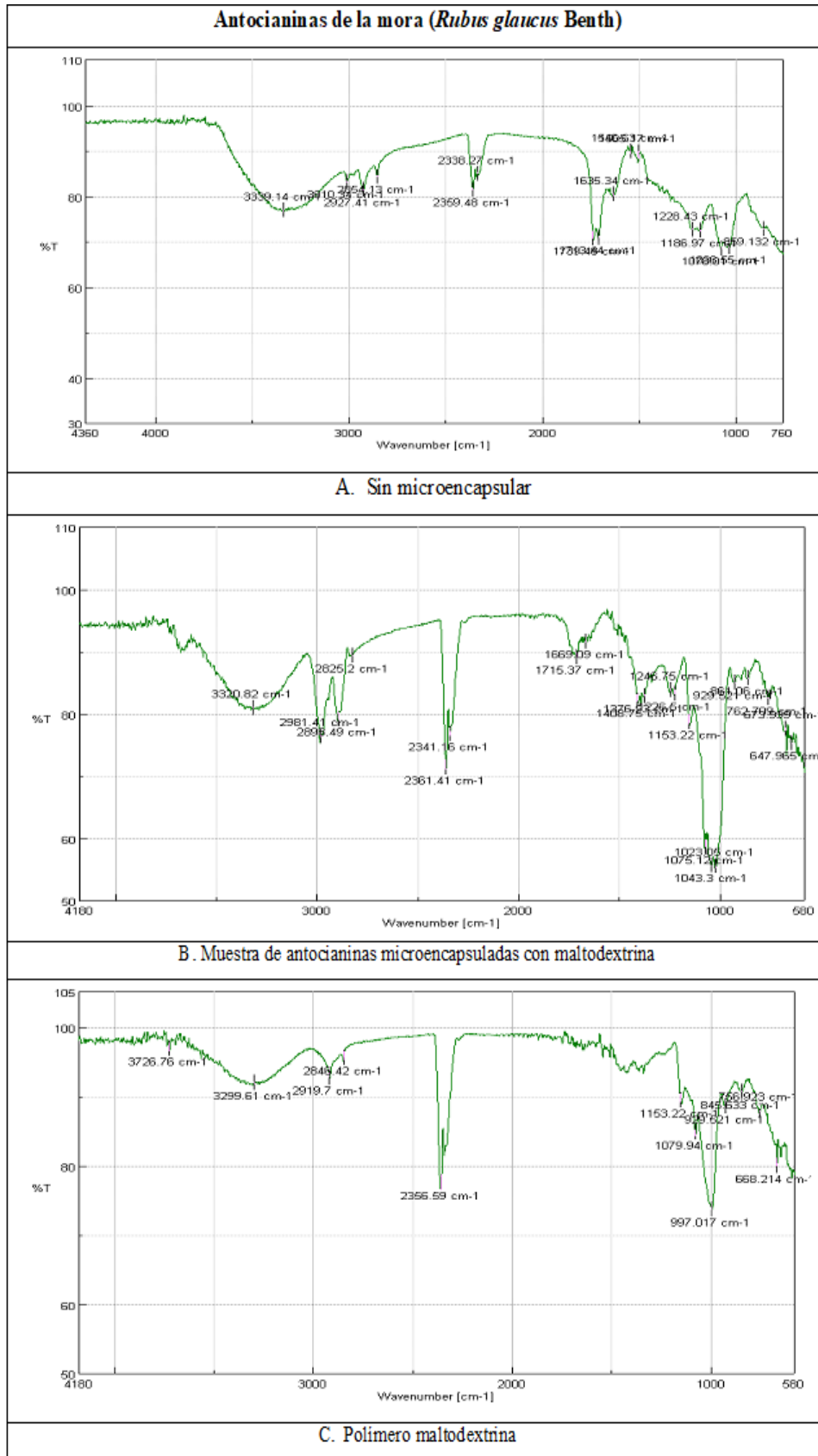


Figura 4. Comparación de los espectros de muestra sin microencapsular y con microencapsulado de maltodextrina y el polímero maltodextrina

En la figura 3 A) se observa la muestra líquida sin microencapsular, B) muestra de antocianinas de mora microencapsuladas con proteína de suero, C) muestra de antocianinas de mora microencapsuladas con mezcla de maltodextrina y goma arábica.

En la figura 4 A) se indica la muestra líquida sin microencapsular, B) polímero maltodextrina y C) polímero maltodextrina.

Como se observa en la figura 3 A), los intervalos de números de onda de los grupos funcionales (OH) de los polifenoles se encuentran entre 1710- 1635  $\text{cm}^{-1}$ .

En el espectro de la muestra sin microencapsular se observa que las bandas correspondientes al grupo OH están más intensas a comparación con los espectros de las muestras microencapsuladas, por lo que se comprueba que las antocianinas se encuentran recubiertas por el polímero.

Los espectros pertenecientes a las antocianinas microencapsuladas con los diferentes polímeros presentan bandas más intensas en comparación con el polímero maltodextrina debido a que el porcentaje de eficiencia con dicho agente microencapsulante fue superior a la alcanzada con los otros agentes encapsulantes, por lo que se puede decir que a medida que la eficiencia aumente el pico del microencapsulado va a disminuir y será similar al del polímero.

#### **Actividad antioxidante in vivo de microencapsulado de *Rubus glaucus* Benth**

En la figura 5 se presentan las diferentes curvas de crecimiento de la levadura *S. cerevisiae* expuesta a oxidación con peróxido de hidrógeno, comparada con la vitamina C como antioxidante de referencia y los microencapsulados de

antocianinas en los tres polímeros de uso industrial.

*S. cerevisiae* es uno de los organismos modelos más utilizados por su conocimiento fisiológico y genético, crecimiento rápido, es accesible económicamente y puede aislarse con facilidad lo que la hace factible para el estudio en cuestión (Mager & Winderickx, 2005).

Varias investigaciones se han realizado usando *S. cerevisiae* como modelo in vivo para identificar antioxidantes naturales extraídos de fuentes vegetales, para estudiar mecanismos moleculares de acción de polifenoles y para la detección de proteínas implicadas en la respuesta al estrés oxidativo de la misma (Baba, Malik, Wani, & Mohiuddin, 2015; Gibis, Zeeb, & Weiss, 2014).

La determinación de la actividad antioxidante in vivo se realizó en base a la levadura *S. cerevisiae* como modelo, a la cual se le sometió a estrés oxidativo utilizando peróxido de hidrógeno para evaluar su capacidad de recuperación en presencia de antioxidantes.

En la figura 5 se observa el crecimiento de la levadura sin tratamiento (curva gris) la cual crece normalmente con sus respectivas propiedades en fase de adaptación, exponencial y estacionaria debido a que se encuentra en un medio rico en nutrientes para la misma como es caldo YPD; sin embargo, la curva de crecimiento que contiene peróxido de hidrógeno (curva amarilla) se oxidó y se nota la deficiencia que tiene en su desarrollo. Las levaduras contienen algunos compuestos antioxidantes como el ubiquinol ácido D-eritroascórbico, la flavohemoglobina, ácido D-eritroascórbico, el glutatión, ergosterol, las metalotioneínas, la trehalosa y poliaminas, inclusive está dotada de algunos metabolito carotenoides, además

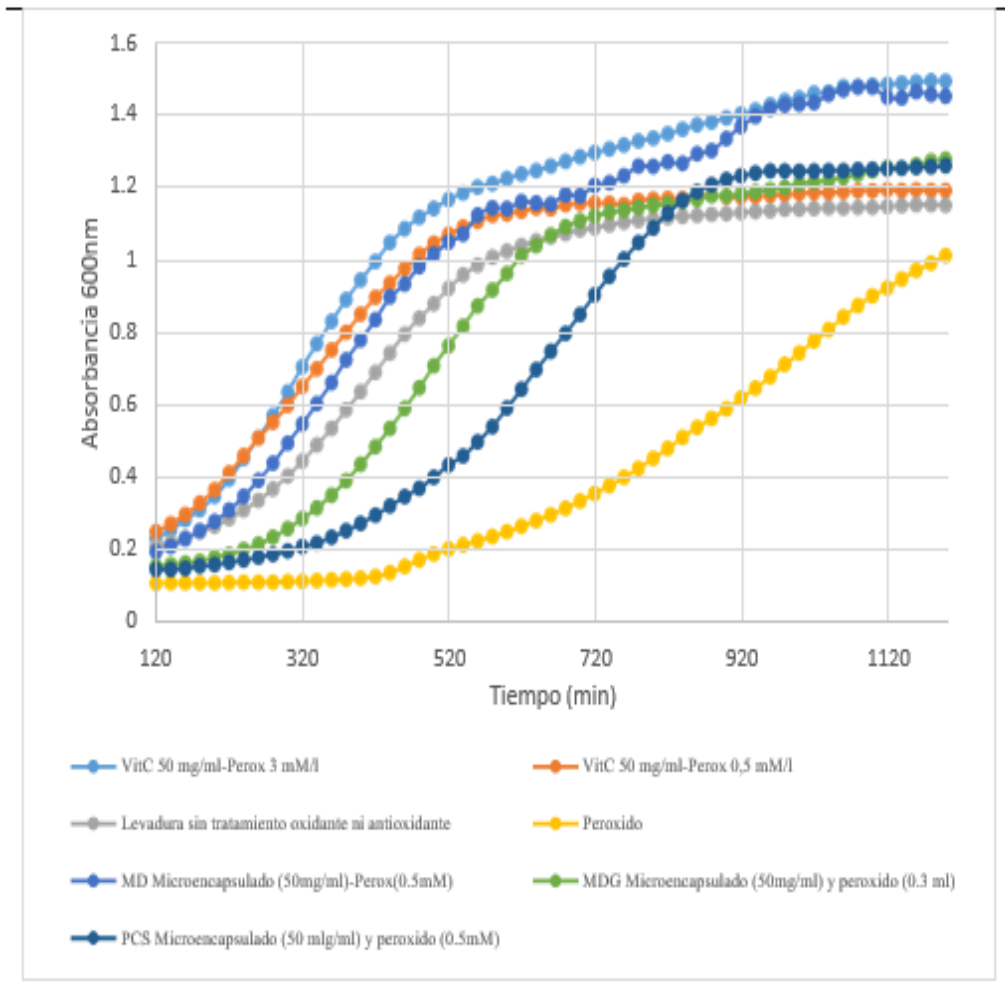


Figura 1. Curva de antocianinas microencapsuladas en base a los diferentes polímeros en el crecimiento de *S. cerevisiae*.

poseen enzimas que detoxifican el oxígeno activo, tales como la Cu/Zn superóxido dismutasa, peroxidasa, Mn superóxido dismutasa, tiorredoxina peroxidasa, citocromo C, catalasa A, glutatión reductasa, tiorredoxina reductasa, tiorredoxina, y catalasa T (Jamieson, 1988); (Gibson, 2007); (Herrero, 2008); (Kaino, 2008). A pesar que la levadura contiene peróxido como una forma de estrés oxidativo realiza su crecimiento inicial, sin embargo a medida que pasa el tiempo su crecimiento va declinando.

Las curvas control (celeste y tomate) a pesar de contener peróxido presentan un crecimiento normal ya que la presencia de vitamina C tiene la característica de ser antioxidante por su actuación en la reducción de radicales libres, disminuyendo las reacciones continuas y previniendo daños en los alimentos; además que frena el pardeamiento de las frutas y tiene un alto valor nutricional (Bastías, 2016). La curva de crecimiento de color azul pertenece al microencapsulado con maltodextrina, se nota que se encuen

tra entre las curvas con vitamina C y está creciendo normalmente similar a las curvas patrón (vitamina C) por lo que se determina que el microencapsulado posee actividad antioxidante.

La curva verde es el microencapsulado con una mezcla de maltodextrina-goma arábica y la curva azul intenso es la curva del microencapsulado con el polímero proteína concentrada de suero. Estas curvas presentan una manera similar de crecimiento comparando con las curvas patrón que contienen vitamina C, lo que indica que también presentan actividad antioxidante; a pesar de ello al comparar las tres curvas de microencapsulado se determinó que la de maltodextrina contiene mayor actividad antioxidante por su similitud más próxima a las curvas patrón, cuestión que puede atribuirse a que presenta también una mayor concentración de antocianinas y eficiencia de microencapsulación.

soriales y biofuncionales de la mora, donde el biopolímero maltodextrina tuvo un mayor porcentaje de eficiencia de microencapsulación (90,81%).

#### **4. Conclusiones**

Los resultados obtenidos en cuanto a caracterización físico-química cumplen un papel importante para determinar el valor nutricional de los alimentos. Los frutos que crecen de las plantas del género *Rubus glaucus* Benth poseen actividad antioxidante, lo que se verificó a través de las curvas de crecimiento, donde se observó la adaptación y el desarrollo de la levadura *S. cerevisiae* al estar sometida en un medio nutritivo con antocianinas. Las antocianinas que son los antioxidantes en la mora, estuvieron sometidos al proceso de microencapsulación con 3 polímeros, dando a conocer que este procedimiento es una técnica favorable para lograr la estabilidad de los componentes y retener las características sen-



## 5. Referencias bibliográficas

- Abdel-Aal, M. &. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheat. Obtenido de [http://www.aaccnet.org/publications/cc/1999/May/Pages/76\\_3\\_350.aspx](http://www.aaccnet.org/publications/cc/1999/May/Pages/76_3_350.aspx)
- Aguilera, M., & Reza, M. (2011). Propiedades funcionales de las Antocianinas. Obtenido de <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/81>
- Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum tuberosum* spp) variedades Puca-shungo- y Yana Shungo. Obtenido de Aranda, C. (2018). Extracción y microencapsulación de antocianinas a partir de papas nativas (*Solanum tuberosum* spp) variedades: <http://uta.edu.ec/bitstream/123456789/27504/3/BQ%20145.pdf>
- Arrazola, G. H. (2014). Microencapsulación de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. Obtenido de <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Ayala, L. (2013). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE MORA. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf>
- Baba, S., Malik, A., Wani, Z., & Mohiuddin, Z. (2015). Análisis fitoquímico y actividad antioxidante de diferentes tipos de tejidos de *Crocus sativus* y alivio del estrés oxidativo potencial del extracto de azafrán en plantas, bacterias y levaduras. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629915002562?via%3Dihub>
- Bastías, M. (2016). La vitamina C como un eficaz micronutriente. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/469/46946023012.pdf>
- Choi, Y.-S. C.-Y.-W.-S.-Y. (2011). Choi, Y.-S. C.-Y.-W. (2011). Choi, Y.-S., Choi, Effects of rice bran fiber on heat-induced gel prepared with pork salt-soluble meat proteins in model system". 88(1),59-66.
- Cuenca, J. (Febrero de 2017). Evaluación de las características físico químicas del colorante de mora, extraído con microondas a diferente niveles de tiempo y potencia. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9205/1/T-UC E-0004-10.pdf>
- Garzón, A. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>
- Gibis, M., Zeeb, B., & Weiss, J. (2014). Formación, caracterización y estabilidad del extracto de hibisco encapsulado en liposomas multicapa. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X13003755?via%3Dihub>
- Gibson, B. (2007). Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling. *FEMS Microbiology Reviews*,31(5):535-569..
- Guijarro, M. (2019). Retención de antocianinas en frutos de mora (*Rubus glaucus* Benth) sin espinas sometidos a diferentes tratamientos poscosecha. Obtenido de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/813/81361553007/html/index.html>

- Herrero, E. (2008). Redox control and oxidative stress in yeast cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(11): 1217-1235. .
- INEN. (2010). Frutas frescas mora, requisitos. Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.2427.2010/page/n3>
- INEN-ISO, N. (2013). Productos vegetales y de frutas. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico., 2. 1.-3. (s.f).
- INIAP. (2013). FICHA TÉCNICA DE LA VARIEDAD DE MORA SIN ESPINAS. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4768/1/iniapsc359.pdf>
- Jamieson, D. (1988). Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 14(16): 1511-1527. .
- Kaino, T. (2008). Gene expression profiles and intracellular contents of stress protectants in *Saccharomyces cerevisiae* under ethanol and sorbitol stresses. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(2): 273-283.
- Kong, J. L. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933. . Obtenido de Kong, J. L. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933. Obtenido de Analysis and biologichttps://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v24n5/art11.pdf?fbclid
- Mager, W., & Winderickx, J. (2005). Yeast as a model for medical and medicinal, research. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 26(5), 265–273. Obtenido de [https://www.cell.com/trends/pharmaceutical-sciences/fulltext/S0165-6147\(05\)00076-3?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/pharmaceutical-sciences/fulltext/S0165-6147(05)00076-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fshowall%3Dtrue)
- Martínez, S. G. (2015). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Obtenido de Martínez, S. G. (2015). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria* 17(6), 271-278. Obtenido de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2>
- Montalvo, D. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar . Obtenido de Montalvo, D. (2010). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientehhttp://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/enfoqueute/v7n3/1390-6
- Peláez, A. (2016). VALIDACIÓN FUNCIONAL DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CACAO MEDIANTE ENSAYOS IN VIVO CON ORGANISMOS MODELO. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/75988884.pdf>
- Ramirez, M., Rojas, N., & Correa, L. (2006). Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (*Rubus glaucus* benth). *Ciencia en Desarrollo*, 115-130.
- Shipp, J. (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients .
- Sortino, S. N. (2016). Efecto de la aplicación de tecnologías emergentes en vegetales. Obtenido de [https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstream/handle/11746/4641/11746\\_4641.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstream/handle/11746/4641/11746_4641.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Tonon, R. C. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43 (3): 907-914 . .
- Yashin, A. Y. (2017). Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants* . Obtenido de Yashin, A. Y. (2017). Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidant* Obtenido de Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants* (Basel, Switzer
- Zapata. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/145/14532635008.pdf>