

INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE CALKINÍ

**“Evaluación de las propiedades bioactivas de extracto de antocianinas de
Chrysophyllum cainito L. encapsulado con maltodextrina mediante
liofilización”**

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**EGRESADO:
YADY CARMINI GONZÁLEZ CHI**

**DIRECTOR Y CO-DIRECTOR:
DR. JORGE CARLOS CANTO PINTO
DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN**

Calkiní, Campeche, México 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Subdirección de Planeación y Desarrollo

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante

Calkiní, Campeche 45814
P/09/25/783

INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

MODALIDAD: TESIS

C. YADY CARMINI GONZALEZ CHI 6784
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
PRESENTE

Con relación a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Licenciatura, capítulo VII, fracción I, vigente en este Instituto, y una vez emitido el fallo favorable por el director DR. JORGE CARLOS CANTO PINTO, y el co-director DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: **"EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE EXTRACTO DE ANTOCIANINAS DE CHRYSOPHYLLUM CAINITO L. ENCAPSULADO CON MALTODEXTRINA MEDIANTE LIOFILIZACIÓN"**.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría, Fortaleza de Nuestra Cultura®



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE GALKINI
"DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR Y APOYO A
ESTUDIANTES"
CLAVE: 04MSU0013P
CALKINI, CAMPECHE, MEXICO

Dr. Jorge Alfonso Hau Puc.
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante.

C.c.p. Archivo



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24900 Tel. 996-8134870,
e-mail: se_dcalkini@tecnm.mx | itescam.edu.mx



Dedicatoria

A mis padres Maria juanita Chi Chan y Manuel Enrique González Huchín por motivarme día con día y no dejarme caer para culminar esta etapa, estar pendiente de mí en este proceso, en especial a mi madre que es mi mayor motivación por la que he logrado llegar hasta aquí, siempre creyendo en mí, incluso cuando yo no lo hacía, sin ella no hubiera iniciado este proceso que fue difícil pero no imposible, Te amo mamá.

A Dios por impulsarme y guiarme en mis noches brindándome las fuerzas necesarias para no rendirme.

A mis hermanos Manuel de Jesús González Chi y Ana Rosa González Chi por motivarme para culminar esta meta y ser alguien en la vida, recordándome todo lo que he avanzado y que no podía dejar sin terminar.

A mi corazón Milagros de Fátima Uc Noh por apoyarme en todo momento, escucharme, consolarme y ser mi refugio sin condiciones, no estuvo al inicio, pero sí en lo más importante y difícil para mí de este proceso, en las buenas y en las peores.

Agradecimientos

Al Dr. Víctor Moo Huchín por brindarme su apoyo, consejos, compartir sus conocimientos en todo momento durante mi estancia, integrarme como parte de su equipo en los laboratorios y no dejarme decaer los ánimos durante las correcciones hasta culminar lo que hoy he logrado.

Al Dr. Jorge Carlos Canto Pinto por el apoyo que me dio durante la redacción de mi libro, revisiones para lograr culminar este proceso.

Los compañeros de laboratorio de alimentos y bioquímica que estuvieron durante mi estancia como equipo en el laboratorio, por los momentos vividos, el apoyo incondicional en todo momento, las risas de cada almuerzo y los consejos brindados.

También quiero agradecer a Reyna por ser mi compañera de departamento y no dejarme sola desde el inicio de esta meta, sus consejos en los instantes difíciles que me veía decaer y la confianza que me ha brindado.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. MARCO TEÓRICO	12
2.1 Generalidades del <i>Chrysophyllum Cainito L</i>	12
2.2 Características físico-químicas de (<i>Chrysophyllum Cainito L</i>)	15
2.3 Aprovechamiento de la fruta	16
2.3.1 Antocianinas	16
2.3.2 Estructura y color de antocianinas	18
2.3.3 Factores químicos que determinan el color y la estabilidad de las antocianinas	19
2.3.4 Extracción de antocianinas	20
2.4 Análisis de antocianinas en frutas	22
2.4.1 pH diferencial- Antocianinas totales	22
2.4.2 Análisis de antocianinas por cromatografía de líquidos	22
2.5 Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la cáscara de caimito .	25
2.5.1 Compuestos fenólicos y métodos de capacidad antioxidante	25
2.6 Encapsulación.....	32
2.6.1 La liofilización como método de encapsulación de compuestos bioactivos	34
2.6.2 Maltodextrina como agente encapsulante	37
2.6.3 Investigaciones recientes de encapsulación de antocianinas usando liofilización y maltodextrina	39
3. OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo general.....	44

3.2 Objetivos específicos	44
4. JUSTIFICACIÓN	45
5. MATERIALES Y MÉTODOS	47
5.1 Obtención de Caimito	48
5.2 Extracción de antocianinas	48
5.3 Tratamientos con maltodextrina ED 10-15	48
5.4 Extracción de compuestos no encapsulados (Superficial) y encapsulados (Totales)	49
a) Compuesto no encapsulado superficial (ECS)	49
b) Compuesto encapsulado total (ECT).....	49
5.5 Método pH diferencial-Antocianinas totales	49
5.6 Identificación y cuantificación de antocianinas individuales por HPLC	50
5.7 Compuestos fenólicos solubles totales (CFT)	51
5.8 Contenido de flavonoides totales	51
5.9 Capacidad antioxidante ABTS	52
5.10 Capacidad antioxidante Poder Reductor	54
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
6.1. Contenido de CFT y FT	56
6.2 Capacidad antioxidante ABTS y poder reductor	57
6.3 Determinación de cianidina 3 glucósido en encapsulados por HPLC y eficiencia de encapsulación de <i>C. cainito</i>	59
7 CONCLUSIÓN.....	61
8 BIBLIOGRAFÍA.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regiones del mundo donde se cultiva <i>C. cainito</i> L	13
Figura 2. Parte externa del fruto.....	14
Figura 3. Parte interna del fruto.....	14
Figura 4. Secciones cortadas de cáscara de caimito	14
Figura 5. Gama de colores en frutas y verduras.....	17
Figura 6. Color de las antocianinas en función del pH.....	20
Figura 7. Métodos disponibles de extracción y purificación de antocianinas	21
Figura 8. Cromatografía de líquidos	23
Figura 9. Clasificación de compuestos fenólicos	29
Figura 10. Encapsulación de pigmentos con maltodextrina mediante liofilización	32
Figura 11. Diagrama de fases del agua.....	36
Figura 12. Liofilización	36
Figura 13. Maltodextrina con antocianinas	38
Figura 14. Maltodextrina con ácido cítrico	38
Figura 15. Estructura química de RMD de maltodextrina	39
Figura 16. Estrategia general del trabajo.....	47
Figura 17. Comparación de CFT (A) y FT (B) (ECS y ECT) de diferentes tratamientos de encapsulación con MAD de antocianinas de <i>C. cainito</i>	57
Figura 18. Comparación de capacidad antioxidante PR (A) y ABTS (B) (ECS Y ECT) de diferentes tratamientos de encapsulación con MAD de antocianinas de <i>C. cainito</i>	58
Figura 19. Comparación del contenido de cianidina 3-glucósido determinado por HPLC en ECS y ECT de encapsulado de <i>C. cainito</i> (A) y eficiencia de encapsulación (B) de diferentes tratamientos con MAD.	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas del caimito	16
Tabla 2. Fuentes importantes de antocianinas	17
Tabla 3. Estructura de las antocianidinas más frecuentes en las plantas	18
Tabla 4. Métodos para determinar la capacidad antioxidante.....	26
Tabla 5. Compuestos bioactivos encontrados en el fruto de caimito morado y verde	30
Tabla 6. Fuente vegetal de obtención de pigmentos	34
Tabla 7. Estudios recientes sobre la microencapsulación de antocianinas extraídas de diversos matrices vegetales	39
Tabla 8. Tratamientos de encapsulación de extracto de antocianinas en Maltodextrina	49
Tabla 9. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de <i>C. cainito</i> para análisis de CFT.	51
Tabla 10. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de <i>C. cainito</i> para análisis de FT.....	52
Tabla 11. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de <i>C. cainito</i> para análisis de ABTS.....	53
Tabla 12. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de <i>C. cainito</i> para análisis de PR.	54

RESUMEN

La cáscara de *C. cainito* es una fuente importante de antocianinas como la cianidina 3-glucósido. Se sabe que el extracto de antocianinas de la cáscara de *C. cainito* L tiene poca estabilidad al cambio de valores de pH y temperatura. El objetivo del presente estudio fue evaluar las propiedades bioactivas del extracto de antocianinas de *C. cainito* encapsulado mediante liofilización a diferentes concentraciones de maltodextrina MAD. Se realizó la extracción asistida por ultrasonido de antocianinas a partir de cáscara liofilizado del fruto. El extracto seco solubilizado en agua fue tratado con tres diferentes concentraciones de maltodextrina MAD, 20%, 50% y 70%. Cada muestra se liofilizó y se analizó las propiedades bioactivas (compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante) en la fracción total ECT y la fracción superficial ECS del polvo encapsulado. Se encontró que la fracción ECT tiene mayor contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante que la fracción ECS. La mayor eficiencia de encapsulación de cianidina 3-glucósido (~97 %) del extracto fue para los tratamientos que contenían 50 % y 70 % MAD. Se sugiere usar niveles de 50 % y 70 % de MAD para la encapsulación del extracto de *C. cainito* mediante liofilización para la obtención de un producto funcional.

1. INTRODUCCIÓN

El caimito, *Chrysophyllum cainito* L. fruta tropical de origen en las Antillas, tropicalizado en Panamá y México (C et al., 2009). Tiene grandes propiedades medicinales ya que contiene nutrientes esenciales como fibra dietética, carbohidratos, grasas, proteínas y vitaminas, incluidas las vitaminas A, B y C. Los frutos que se obtienen optan medidas de entre 5 y 8 cm de diámetro, dependiendo el proceso de desarrollo en el que se encuentran existe una variedad en su tonalidad entre verde-morado, toman un color morado cuando maduran y permanece de color verde alrededor de los sépalos. Para diversas aplicaciones en la industria alimentaria existen diversas ventajas de interés que se pueden utilizar adquiriendo compuestos bioactivos con propiedades beneficiosas, potenciadores del sabor, conservantes alimentarios, pigmentos, antioxidantes naturales, etc. Tiene un patrón en forma de estrella en su interior con una pulpa carnosa, jugosa y blancuzca, su cáscara está lleno de látex, por lo que es imposible comerlo (Do Tan Khang, 17 mayo). Para que la fruta madure completamente y se considere adecuada, se debe recolectar cuando el color del fruto es opaco, suave al tacto, y de igual manera cambia a morado o verde. El interés es obtener compuestos bioactivos con propiedades beneficiosas, potenciadores del sabor, conservantes alimentarios, pigmentos, antioxidantes naturales para diversas aplicaciones en la industria alimentaria. El fruto tiene un patrón en forma de estrella en su interior con una pulpa carnosa, jugosa y blancuzca, su cáscara está lleno de látex, por lo que es imposible comerlo (Do Tan Khang, 17 mayo). Para que la fruta madure completamente y se considere adecuada, se debe recolectar cuando el color del fruto es opaco, suave al tacto, y de igual manera cambia a morado o verde. Este trabajo pretende evaluar sus propiedades bioactivas encapsuladas del caimito mediante liofilización a tres concentraciones de maltodextrina. Primero se inicia con la recolección de la materia prima, una vez alcanzado su grado de madurez y coloramiento, las cáscaras se someten al proceso de liofilización y encapsulación para obtener el extracto de acuerdo a tres tratamientos con maltodextrina, las antocianinas encapsuladas son evaluadas en su contenido de pH diferencial, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas

individuales por HPLC, antioxidante (ABTS y poder reductor); Se evaluó el extracto de pigmentación ESC Y ECT.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades del *Chrysophyllum Cainito* L

La pulpa de *C. cainito* L presenta un sabor y textura muy apreciado por los consumidores que lo hacen atractiva en el mercado internacional y la fruta se encuentra disponible comercialmente entre marzo y abril (Ku Canul, 2021). *C. cainito* es un árbol que se desarrolla en climas secos a húmedos, preferentemente tropicales y puede alcanzar una altura de 20 m con una copa amplia de gran tamaño, una corteza café a gris oscura, desglosándose en piezas alargadas y grandes, designado con nombres comunes como Star Apple, golden leaf tree en inglés y caimito, estrella, caimo morado, caimito maduro verde en español así mismo como cainito, ajara en portugués y por último caimite, caimitier en francés (Carranza Zúñiga, 2020).

El *C. cainito* L tiene dos variedades de color en el exocarpio que es el color morado y verde; la variedad de la cáscara morada se caracteriza por un alto contenido en azúcar y la variedad de la cáscara verde se caracteriza por su aroma. Asimismo, el fruto tiene buenas propiedades medicinales, ya que contiene nutrientes esenciales como fibra dietética, carbohidratos, grasas, proteínas y vitaminas, incluidas las vitaminas A, B y C (Ku Canul, 2021). Después de ser cosechados tiene una vida útil postcosecha de 10 días y en refrigeración a 5 °C hasta de 20 días. Usualmente los árboles adultos producen hasta 68 kg de fruta; se usan para la elaboración de varios dulces y batidos, para preparar bebidas similares a la leche de almendras y productos de confitería (Carranza Zúñiga, 2020).

El *C. cainito* L es una fruta tropical originaria en las Antillas; sin embargo, se encuentra tropicalizado en Panamá y México. La fruta es ampliamente disponible en diversas regiones tropicales del mundo. En el mapa mostrado en la figura 1 se observa los países donde se ha cultivado la especie entre ellos podemos mencionar Antigua y Barbuda, Bahamas, Barbados, Belice, Costa rica, Cuba, Dominica, República

Dominicana, salvador, en la región amazónica como Napo, Zamora de las guayas, Granada, Guatemala, Haití, Honduras, Jamaica, Martinica, México, etc. No se determina que la especie pueda plantarse en todas las zonas ecológicas de los países mencionados, ni que la especie no pueda ser plantada en otros países distintos a los representados. Dado que algunas especies de árboles pueden llegar a extinguir a otras especies, por eso debe seguir los procedimientos que se aplican a su sitio de plantación (C et al., 2009).



Figura 1. Regiones del mundo donde se cultiva *C. cainito L.*

En su ecología el caimito prefiere una atmósfera húmeda con temperaturas relativamente altas en todo el año. En todo el sureste asiático prospera en las tierras bajas y en áreas con una estación seca distintiva. Crece con éxito en casi todos los tipos de suelos; suelos fértiles, bien drenados y ligeramente ácidos (C et al., 2009).

Tiene una apariencia exterior similar al de un melocotón, su denominación se deriva de Taínas “Caimitu” que hace referencia a jugo, “Im” que significa teta y “Vitis” resina. Se encuentra dos variedades del fruto de caimito, los de cáscara de color verde y cáscara de color morado (Figura 2), se vuelven de color morado cuando maduran y suelen permanecer de color verde alrededor de los sépalos, los frutos obtienen una medida entre 5 y 8 cm de diámetro. Sus hojas varían de 8 a 12 cm de largo y 3 a 5 cm

de ancho. Tiene un patrón en forma de estrella en su interior con una pulpa carnososa, jugosa y blancuzca (Figura 3), su cáscara está lleno de látex, por lo que es imposible comerlo (Do Tan Khang, 17 mayo).



Figura 2. Parte externa del fruto

(Chi, 2023)



Figura 3. Parte interna del fruto

(Chi, 2023)

En su estado de madurez se observa que el exocarpo se torna opaco y se vuelve blando con una textura arrugada. Generalmente entre el mes de marzo y abril se puede identificar su maduración para la recolección de los frutos por los cambios que surgen en sus rasgos físicos como es el color y la textura. La semilla de los frutos cosechados se puede recuperar para nuevamente efectuar su siembra siendo separada, lavada y secada manualmente (Carranza Zúñiga, 2020). En la figura 4 se observa secciones de cáscara de caimito, después de ser previamente separada de su pulpa y semilla.



Figura 4. Secciones cortadas de cáscara de caimito

(Chi, 2023)

2.2 Características físico-químicas de (*Chrysophyllum Cainito* L)

Es importante para productores, comercializadores y procesadores conocer las propiedades físico-químicas del fruto para programar y planificar las labores de cosecha, las operaciones de procesamiento a seleccionar y el diseño de empaques (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016). Debido a la ignorancia del conocimiento de métodos y procedimientos, el fruto está siendo desaprovechado a nivel industrial y comercial, con este estudio se pretende generar información para suministrar un mejor aprovechamiento a dicho fruto.

El color, la transparencia y la opacidad son importantes en los alimentos, se relacionan con la cantidad de luz que se deja pasar a través del objeto o lo que se refleja en él. El valor de Luminosidad $L^* = 100$ se interpreta 100 % brillo, mientras que un valor $L^* = 0$ significa es completamente opaco. El parámetro a^* representa los componentes rojo-verde de la muestra analizada, bajo las circunstancias determinadas por el sistema CIELAB, donde el rojo representa valores positivos (+) y el verde (-) representa valores negativos. El parámetro b^* define el componente amarillo-azul presente en una muestra, donde el azul representa los valores negativos y el amarillo los valores positivos según las condiciones establecidas por la carta de color (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016).

El valor de pH depende más del tipo de ácido que de la concentración, constituye una medida de los protones cedidos al agua por parte de las especies con actividad ácida en la muestra (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016).

Por otra parte, la acidez es uno de los parámetros de calidad físicos y químicos más importante en vegetales, debido a sus proporciones diferentes de diversos ácidos orgánicos como ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido oxálico, ácido fórmico, etc. que pueden ser cuantificados (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016).

Los parámetros químicos utilizados para evaluar la madurez de las frutas incluyen cambios en el contenido total de sólidos solubles, expresado como °Brix, que

corresponde al porcentaje de azúcares en solución (p/p) (Gómez Marquez & Urrea Ciro, 2016).

En la tabla 1 se muestra las características físico-químicas de la pulpa de *C. cainito* L de la variedad morado y verde. La fruta de cáscara morado se caracteriza por tener un valor más bajo de pH (5.97) y acidez (0.05 %) en comparación al fruto de cáscara verde. Sin embargo, ambos frutos tuvieron valores similares de °Brix (Arizaleta et al., 2014).

Tabla 1. Características fisicoquímicas del caimito

<i>Tipo de Fruto</i>	<i>pH</i>	<i>Acidez %</i>	<i>°Brix</i>
<i>Morado</i>	5.97	0.05	14.43
<i>Verde</i>	6.31	0.07	13.85

(Arizaleta et al., 2014)

En Yucatán, México se evaluaron algunas características de fruto de caimito morado, de acuerdo al ángulo de tono (°Hue) se obtuvo un valor de 348.42 color rojo, un alto contenido de 84.67 % en humedad, 0.26 % en acidez titulable y con respecto a los sólidos solubles totales 11.80 °Brix (Moo-Huchin et al., 2013).

2.3 Aprovechamiento de la fruta

2.3.1 Antocianinas

Las antocianinas son el grupo más importante de pigmentos solubles. Es un subgrupo de los flavonoides y es uno de los grupos de pigmentos más ampliamente distribuidos en el mundo vegetal (Alvarado de León, 2016). Estos pigmentos se almacenan en las vacuolas de las células, lo que hace que diversas frutas, verduras y cereales adquieran una gama de colores que va del rojo al azul como lo son la col morada, la zanahoria morada, cebolla morada, tomates morados y negros (Indigo), granadas, uvas, repollo morado y los rábanos (Figura 5). Cuanto más oscuro son los productos vegetales más cantidad de compuestos polifenólicos (flavonoides) presenta (Ku Canul, 2021). En la tabla 2 se muestran fuentes vegetales y frutas que contienen antocianinas y flavonoides como pigmentos (Enríquez et al., 2023).



Figura 5. Gama de colores en frutas y verduras
(Lopes, 2020).

Tabla 2. Fuentes importantes de antocianinas

<i>Fuente</i>	<i>Colorante</i>	<i>Productos</i>
Vegetales	Morado (Antocianinas, flavonoides)	Col morada, Mashua púrpura
	Rojo-anaranjado (antocianinas)	Rábano
Frutas	Violeta (Antocianinas)	Uva, Mortiño, Mora, Motilón
	Rojo (Antocianina)	Cereza

(Enríquez et al., 2023)

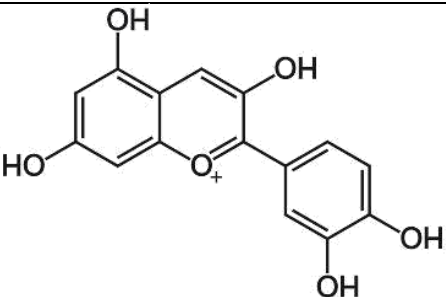
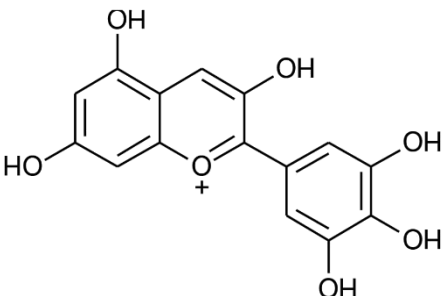
Aunque las antocianinas tienen ventajas de ser sustitutos de los pigmentos artificiales, de igual manera tienen factores de desventaja como su inestabilidad, su degradación a mayor temperatura y la ausencia en el mercado con materiales de origen vegetal obtenidos directamente de plantas, árboles y arbustos como la madera, el corcho, la paja, la caña de azúcar, etc. delimitan su uso productivo. Las antocianinas tienen varias funciones en las plantas, como atraer polinizadores para una mayor dispersión de semillas y proteger las plantas de la radiación ultravioleta y la contaminación viral y microbiana (Ku Canul, 2021).

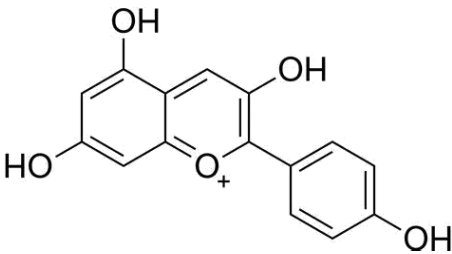
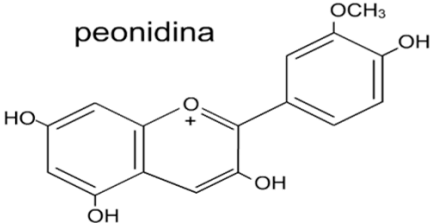
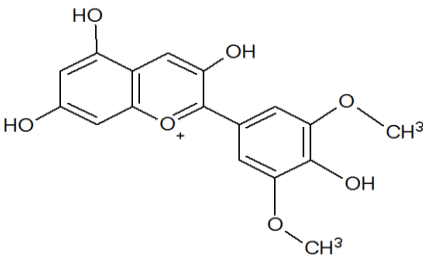
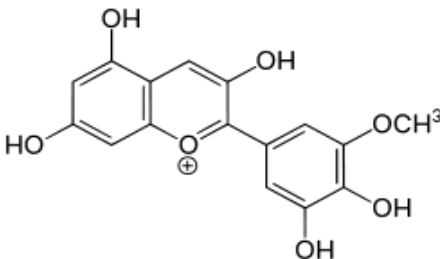
2.3.2 Estructura y color de antocianinas

Las antocianinas constituidas por una antocianidina son glucósidos hidrosolubles, unidas por una molécula de azúcar por medio de un enlace O-glucosídico. La estructura base de las antocianidinas es el ión flavilio o catión 2-fenilbenzopirilio que están formadas por dos anillos aromáticos, A y C, conectados por un anillo B de naturaleza fenólica (Ku Canul, 2021).

El color de las antocianinas está determinado al número y la orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo en la molécula. El aumento de hidroxilación da un tono azul, mientras que el aumento de la metoxilación da un color rojo (Ku Canul, 2021). Se usa sin distinción el término antocianina para los glucósidos de las antocianidinas (aglicona o genina) unidas a una molécula de azúcar, se han descrito 12 antocianidinas, las más importantes se pueden observar en la Tabla 3, cianidina, delphinidina, pelargonidin, peonidina, malvidina y petunidina (Reyna et al., 2022).

Tabla 3. Estructura de las antocianidinas más frecuentes en las plantas

<i>Antocianidinas</i>	<i>Estructura</i>
Cianidina	
Delfinidina	

Pelargonidina	
Peonidina	
Malvidina	
Petunidina	

(Reyna et al., 2022)

2.3.3 Factores químicos que determinan el color y la estabilidad de las antocianinas

La incorporación de las antocianinas a productos farmacéuticos, matrices alimentarias y cosméticos son muy limitadas debido a su baja estabilidad con factores que determinan la estabilidad del pigmento como son el pH, temperatura, actividad de agua, estructura química, etc. durante su procesamiento y almacenamiento (Ku Canul, 2021).

La concentración de las antocianinas, la luz, los disolventes, las proteínas, otros flavonoides y los iones metálicos afectan las propiedades químicas de las antocianinas y, por lo tanto, su estabilidad y color, pero las propiedades físico-químicas de las antocianinas las hacen estables en diferentes condiciones de almacenamiento. La pigmentación intermolecular es una de las técnicas de estabilización más eficaces (Figura 6), donde se emplean interacciones hidrofóbicas entre las antocianinas y de los complejos ácidos fenólicos para formar complejos estables (Ku Canul, 2021).



Figura 6. Color de las antocianinas en función del pH

2.3.4 Extracción de antocianinas

La extracción es un paso importante en el aislamiento, identificación y aprovechamiento de antocianinas de productos vegetales (Ulric, 2021).

La figura 7 resume los diferentes métodos de extracción y purificación de antocianinas de semillas, frutas y otros vegetales. Se observa de igual manera la determinación de las condiciones óptimas de extracción y los distintos métodos de optimización, se muestra la extracción solvente, extracción asistida por ultrasonido, asistida por microondas, de dióxido de carbono supercrítico, enzimática asistida por ultrasonido, profunda con disolvente eutéctico asistida por ultrasonido, asistida por ultrasonidos y microondas (Tan et al., 2022).

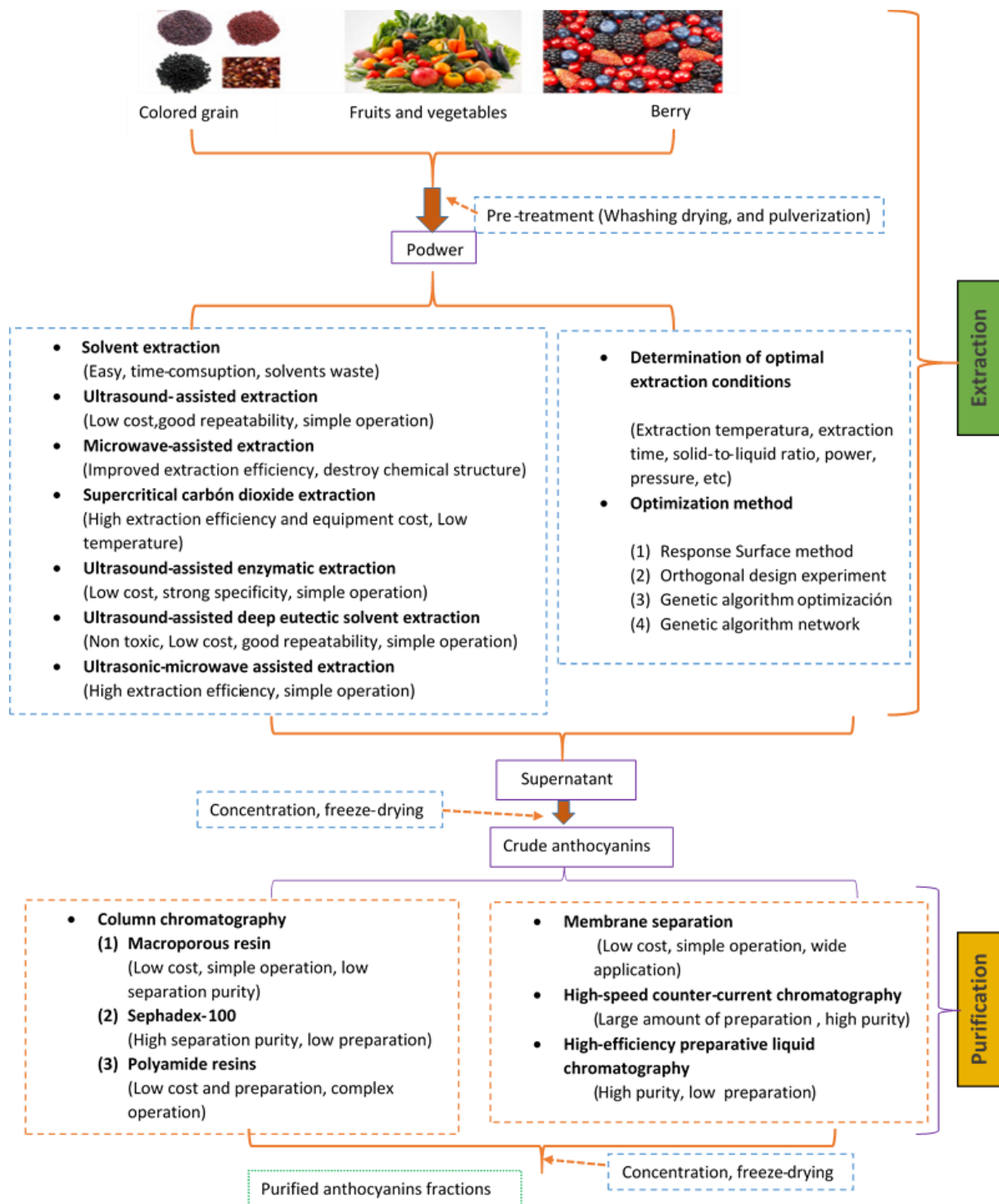


Figura 7. Métodos disponibles de extracción y purificación de antocianinas
(Tan et al., 2022)

2.4 Análisis de antocianinas en frutas

2.4.1 pH diferencial- Antocianinas totales

La solución de antocianinas muestra una coloración rojiza cuando se establece un valor de pH en torno a 1, debido a que predomina casi al 100 % el catión flavilio que es estable solo en entorno ácido. La influencia del pH afecta directamente la pigmentación de las antocianinas, en relación con las diferencias estructurales en las antocianinas ocurre debido a posibles cambios en el pH de la solución. Con valores de pH más regular, se encuentran otras especies diferentes a la solución. Si el pH aumenta entre 2 y 4, predominará la forma quinoide dando una tonalidad azulada; mientras que para valores de pH 4-6 siendo incoloras se compone un equilibrio entre la pseudobase carbinol y chalcona. Un valor de pH de 4.5 significa que la forma es incolora formando una solución carbionol y chalcona. Este hecho es la base para la determinación de la cantidad de antocianinas totales mediante la técnica del pH diferencial (Ulric, 2021).

2.4.2 Análisis de antocianinas por cromatografía de líquidos

La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), se deriva de la cromatografía en columna preparativa y el uso de fases estacionarias da como resultado una selectividad y resolución significativamente mejoradas. Estas fases están formadas por micropartículas esféricas con diámetros entre 2 y 5 μm , que provocan importantes pérdidas de presión importante en la columna. Su éxito se debe a la posibilidad de actuar de forma muy precisa sobre la selectividad entre los compuestos a través de la elección de la columna y de la composición del eluyente, es decir, al beneficiarse de las interacciones disolución/ fase móvil/ fase estacionaria (Rouessac & Rouessac, s. f.).

Un equipo de HPLC se compone de varios módulos con funciones definidas (Figura 8). La circulación de la fase móvil entre estos módulos se logra mediante canales tubulares cortos con un diámetro interno pequeño (0.1 mm). La rapidez de la fase móvil es máxima en el centro de los tubos y nula al contacto de las paredes y, como

consecuencia, se produce inevitablemente una dispersión de los compuestos. Para mejorar las separaciones hay que lograr que el volumen de la fase móvil fuera de la columna sea lo más reducido posible (10 % del volumen muerto de la columna).

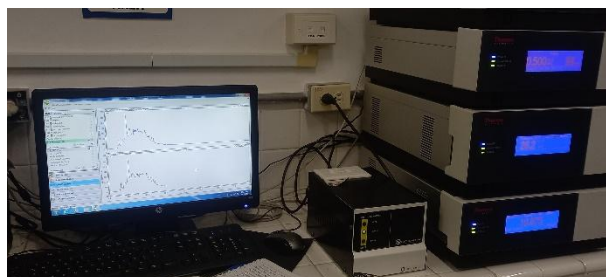


Figura 8. Cromatografía de líquidos

Todos los componentes cuentan con al menos una bomba para imponer el paso de la fase móvil a través de la columna, cuyo relleno muy compacto lo hace responsable de una sobrepresión significativo a nivel del inyector. Esta presión puede alcanzar los 20.000 kPa (200 bar) dependiendo del caudal, tamaño de partículas y densidad de la fase móvil (Rouessac & Rouessac, s. f.).

Las bombas de alta presión planteadas para mantener caudales estables y sin pulsos, se pueden utilizar incluso cuando cambia la composición de la fase móvil. Estas bombas pueden tener solo un pistón o bien llevar dos pistones que funcionan en direcciones opuestas y en serie para evitar las complicaciones de caudal que resultan durante la fase de llenado del cilindro.

Se debe introducir un volumen específico de muestra en la entrada de columna de inyección durante un período de tiempo para alterar lo menos posible el régimen de circulación determinado en la columna y el detector. Para ello, se utiliza una válvula de alta precisión de varias vías, manual o automatizada en los casos de los inyectores automáticos, situada justo antes de la columna cromatográfica. Se trata de una pieza de precisión que debe resistir a presiones que puedan sobrepasar los 30.000 kPa. Se desempeña en dos tiempos: posición de carga y posición de inyección; en la postura de carga la bomba y la columna están en comunicación mientras la muestra se adquiere a presión atmosférica, para ello con la ayuda de una jeringa se inserta la

muestra en un pequeño depósito tubular llamado bucle. Mientras que en estado de inyección la muestra se encaja en el flujo de la fase móvil por rotación de 60° de una palanca que permite cambiar la dirección de circulación en el bucle. Se puede alcanzar una buena reproducibilidad de los volúmenes siempre que el bucle haya sido llenado totalmente por la muestra (el volumen inyectado desde la jeringa debe ser de unas 5-10 veces mayor que el del bucle) (Rouessac & Rouessac, s. f.).

La columna es un tubo recto, calibrado, de acero que mide entre 3 y 15 cm de longitud. Se utiliza un diámetro interno de 4.6 mm que exige un flujo de fase móvil de 0.5 a 2 mL/min. La etapa estacionaria se cubre entre dos discos porosos colocados entre sus extremos, cuyo volumen muerto debe ser el menor posible. Actualmente existe una amplia gama de columnas más estrechas: *narrow-bore* (2-4 mm), *microbore* (1-2 mm), *capilares rellenas* (< 1 mm) para las que el máximo caudal admisible desciende a unos cuantos $\mu\text{L}/\text{min}$, lo que requiere una adaptación de las bombas y del detector (Rouessac & Rouessac, s. f.).

Interacciones más o menos fuertes entre las fases estacionarias (polaridad normal o invertida) afectan el tiempo de retención de los solutos. La polaridad de la fase estacionaria nos permite diferenciar dos situaciones iniciales: si la fase estacionaria es polar, la cromatografía está en fase normal. En este caso se empleará una fase móvil menos polar.

Cuando la fase estacionaria es insuficiente polar, la cromatografía se designa en fase invertida, y se manipulará una fase móvil polar (se usará una mezcla de metanol o acetonitrilo con agua). Al alterar la polaridad de la fase móvil se actúa claramente sobre el coeficiente de distribución K (C_s/C_m), básicamente, sobre el factor de retención K de los compuestos. El cromatógrafo es el indicado para obtener una selección correcta en función de los compuestos a separar. La unión a sílice modificada a menudo da como efecto una desventaja significativa de polaridad. Para una fase enlazada, que podemos imaginar compuesta por partículas de sílice recubiertas con una capa de parafina el orden de elusión es inverso al de la fase estacionaria habitual a la que estamos acostumbrados. Por lo tanto, en el caso de los eluyentes polares, los

compuestos polares migran más rápido que los compuestos no polares (Rouessac & Rouessac, s. f.).

2.5 Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la cáscara de caimito

2.5.1 Compuestos fenólicos y métodos de capacidad antioxidante

Varios estudios han demostrado que las frutas y hortalizas suelen ser responsables de efectos protectores que conforman un grupo selecto de compuestos bioactivos (vitaminas, pigmentos, fenoles, entre otros) que previenen diversas enfermedades o incluso curarlas. Una particularidad de los compuestos bioactivos es que ejercen actividad antioxidante, lo cual les permite neutralizar radicales libres, que son capaces de desencadenar diversas patologías (Álvarez Parrilla et al., 2012).

El cuerpo humano tiene varias líneas de defensa internas y externas contra los radicales libres. Una de las líneas internas está constituida por enzimas (glutación peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, glutación reductasa) y la otra línea interna está representada por varias proteínas (transferrina, ferritina, ceruloplasmina y albúmina), que cambian los radicales libres en sustancias que son menos dañinas para el cuerpo. Finalmente en la tercera línea (externa) destacan diversos antioxidantes dietarios de bajo peso molecular, como la vitamina E, carotenoides, compuestos fenólicos, clorofilas y el ácido ascórbico, entre otros (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Los antioxidantes son toda sustancia que retrasa o previene el deterioro, daño o destrucción provocados por oxidación cuando está a bajas concentraciones (Alvarado de León, 2016). Los antioxidantes alimentarios se encuentran de forma natural en compuestos fenólicos o polifenoles, que forman una gran cantidad de metabolitos secundarios, y también son ricos en diversos pigmentos como flavonoides, antocianinas, betacarotenos, carotenoides y clorofila, además de contener diversas vitaminas como la C y E. Los compuestos fenólicos ejercen actividad antioxidante a través de diversos mecanismos. Los fenoles dihidroxilados se puede utilizar como agentes quelantes, reteniendo los iones metálicos que pueden catalizar la formación

de radicales libres. Se considera que la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos está determinada por tres características estructurales: a) la presencia de dos grupos hidroxilo en posición *orto* 3', 4' en el anillo B de la estructura básica de los compuestos flavonoides, como ocurre en la catequina y quercetina; b) la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 en conjunto con un grupo oxo en posición 4 en el anillo C, y c) la presencia de dos grupos hidroxilo, uno en la posición 3 del anillo C y otro en la posición 5 del anillo A (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Los antioxidantes pueden actuar por diferentes mecanismos: 1) agentes reductores que reaccionan con las quinonas, reduciéndolas a fenoles y actúa sobre la polifenoxidasa mediante la unión irreversible con el cobre de la enzima; 2) atrapamiento de radicales libres, los antioxidantes estabilizan las especies reactivas de oxígeno al reaccionar con el componente reactivo del radical; 3) Quelación de iones metálicos, son aquellos antioxidantes que remueven los metales que catalizan la oxidación, especialmente metales con dos o más niveles de valencia como el cobre o el hierro; 4) sinergismo, los sinergistas potencian la acción del antioxidante y contribuyen a regenerar el antioxidante oxidado, al catalizar su paso al estado reducido con formación de un sistema redox (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Existen técnicas para evaluar el contenido antioxidante en alimentos. En su estudio estas metodologías se pueden clasificar en: pruebas a través de las cuales se mide la habilidad de una sustancia para secuestrar radicales libres, estudios que permiten la evaluación del grado de estrés oxidativo en componentes biológicos como lípidos, proteínas o ADN. En la tabla 4 se muestra la clasificación de algunos métodos para determinar la capacidad antioxidante (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Tabla 4. Métodos para determinar la capacidad antioxidante

Clasificación	Marcador	Método
	Radical anión superóxido O ₂	Espectrofotometría (560 nm), GC, ESR, PCL

Ensayos que miden el secuestro de radicales	Peróxido de hidrógeno H_2O_2	Espectrofotometría (230 nm), CL, reacción de Briggs-Rauscher
	Radical Hidroxilo OH	Espectrofotometría (532 nm), ESR, espectrofluorimetría
	Ácido hipocloroso HOCl	Espectrofotometría (410 nm)
	Oxígeno singulete $^1\text{O}_2$	Espectrofotometría (440 nm), CL
	Peroxinitrito ONOO^-	Espectrofotometría (275-500 nm), HPLC, CL
	Peroxilo (ROO).	Fluorimetría
	-ORAC	Fluorimetría, CL
	-TRAP	Fluorimetría, Espectrofotometría (504 nm)
	-DCFH-DA	GC
	-TOSC	Espectrofotometría (470 nm)
	-Decoloración del β -caroteno	Espectrofotometría (443 nm)
	-Análisis de crocina	
	Radical catión ABTS	Espectrofotometría (660-820 nm)
	Radical catión DMPD	Espectrofotometría (505 nm)
	Radical catión DPPH	Espectrofotometría (515-528 nm), ESR, electroquímica, HPLC
Ensayos que miden el estrés oxidativo	Oxidación de lípidos	Manométrico, gravimétrico, polarográfico
	-Absorción de oxígeno	Espectrofotometría (234 nm), HPLC, espectroscopía UV
	-Dienos conjugados	HPLC, GC-MS, CL, espectroscopía UV
	-Hidroperóxidos lipídicos	Valoración
	- Liberación de yodo	Espectrofotometría (500 nm)
	-Análisis de tiocianato	

Otros procedimientos	-Productos de peroxidación lipídica	GC LPO-586, HPLC, GC, GC-MC
	*Hidrocarburos	Sensorial, fisicoquímico, GC
	*Aldehídos citotóxicos	Espectrofotometría (532 nm), HPLC
	*Hexanal	
	*TBARS	Conductividad
	*Test rancimat	GC/MS, HPLC/MS, inmunoensayos
	- Isoprostanos-F ₂	GC/MS, HPLC, LC/MS, inmunoensayos
	Oxidación de proteínas	
	-Modificación de tirosinas	Espectroscopía de absorción atómica, HPLC fluorimetría, inmunoensayos
	-Carbonilación de proteínas	
	Daño al ADN	HPLC, Inmunoensayos, LC-MS/MS
	Fenoles totales. Folin- Ciocalteu	Espectrofotometría (750 nm)
	Reducción de iones metálicos	Espectrofotometría (593 nm) Espectrofotometría (450 nm)
	-FRAP	Espectrofotometría en fase sólida (712 nm)
	-CUPRAC	
	Determinaciones electroquímicas	Voltametría cíclica

(Álvarez Parrilla et al., 2012)

Los flavonoides son compuestos fenólicos y metabolitos secundarios biológicamente activos, pigmentos naturales presentes en frutas y vegetales se encuentran normalmente en formas glicosiladas o esterificadas, sin embargo, debido al procesamiento de la fruta pueden presentarse en forma libre (agliconas). Las frutas y vegetales contienen flavonoides que resguardan al organismo contra los daños causados por los agentes oxidantes. Entre los principales flavonoides se encuentra la flavona, isoflavona, flavonol, flavanona y flavanonol (Alvarado de León, 2016).

Los flavonoides tienen una estructura básica que consiste en un esqueleto de difenilpirano ($C_6-C_3-C_6$) integrado por dos anillos de fenilo incorporados a través de un anillo de pirano. Contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Álvarez Parrilla et al., 2012).

Los polifenoles son importantes sustancias que se encuentran en las plantas y alimentos con un importante contenido antioxidante y pigmentación. Se pueden clasificar en diferente clase y estructura (Figura 9), con diferentes números de carbonos e hidróxilos que los constituyen. Asimismo existen formas solubles simples, o completamente insolubles, como las ligninas (Alvarado de León, 2016).

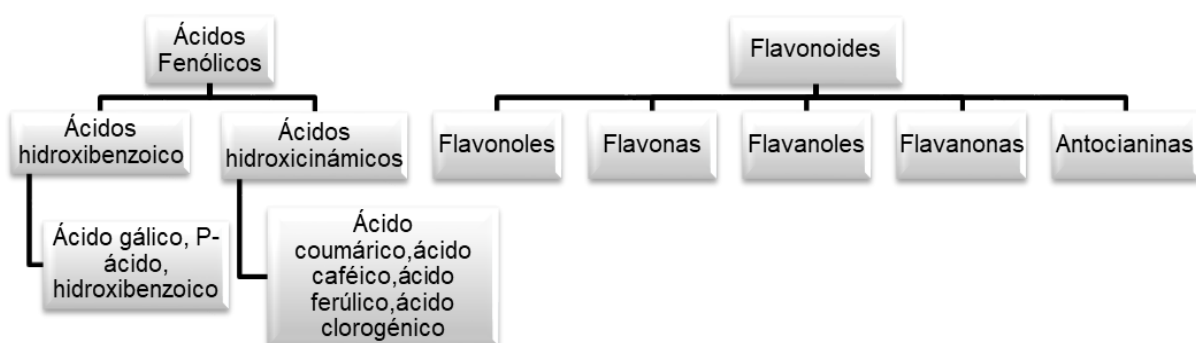


Figura 9. Clasificación de compuestos fenólicos

(Alvarado de León, 2016)

Los compuestos bioactivos debido a su potencial como antioxidantes en las frutas y verduras tienen mucho interés de ser evaluados. En la tabla 5 se muestra el contenido de compuestos bioactivos en fruto de caimito morado y verde. El fruto de caimito morado tiene mayor contenido de antocianinas totales y flavonoides totales en comparación al fruto de cáscara verde (Ku Canul, 2021).

Tabla 5. Compuestos bioactivos encontrados en el fruto de caimito morado y verde

<i>Fruto</i>	<i>Caimito morado</i>	<i>Caimito verde</i>
mg de vitamina C/100 g PH	21.43 ± 4.99	26.19 ± 2.61
Antocianinas totales (mg TA/ 100 g PH)	3.24 ± 0.02	0.18 ± 0.07
Compuestos fenólicos totales (mg de EAG / 100 g PH)	14.91 ± 0.19	18.10 ± 4.46
Flavonoides totales (mg de quercetina /100 g PS)	35.76 ± 1.46	1.25 ± 0.61
Carotenoides totales (mg de β-caroteno /100 g PS)	2.97 ± 0.64	4.25 ± 1.45
ABTS TEAC (μM/100 g PH)	649.63 ± 15.73	684.78 ± 6.90
DPPH TEAC (μM/100 g PH)	366.56 ± 8.04	332.72 ± 6.58

Los valores se expresan como promedio ± estándar (n=6), PS=peso seco, PH=peso húmedo, TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox) (Moo-Huchin et al., 2013).

C. cainito debido a su coloración negra-violácea en su pigmentación que contribuye a la capacidad antioxidante presenta un contenido de antocianinas totales de 2.58 ± 0.01 expresado en mg/100 g de polvo liofilizado. Las antocianinas son más estables bajo condiciones ácidas al momento de extraerse, debido a que los pigmentos rojos sintéticos extraídos en soluciones neutras y alcalinas producen cambios indeseables fácilmente. A altas cantidades de ácidos orgánicos utilizados en la extracción pueden hidrolizar el enlace glucosídico y grupo acilo de las antocianinas para romperse durante el proceso de extracción. Se encontró efectos favorables y negativos del pH en la extracción de antocianinas, se indica que un incremento en el pH favorece a la extracción hasta cierto valor para después disminuir el rendimiento, ocasionando lo mismo con el tiempo, se observa un incremento en el aumento del tiempo de extracción, pero pasados 40 minutos se inicia una degradación de los compuestos. En

resumen, se seleccionaron los parámetros de extracción para establecer las mejores condiciones (Santos Cervera, 2023).

Una manera de estudiar la estabilidad de las antocianinas es a través del análisis de la cinética de degradación, bajo tratamiento térmico y almacenamiento sometido a diferentes temperaturas y pH, en este trabajo de investigación sobre la estabilidad del caimito se encontró que hay un efecto significativo cuando las antocianinas se exponen a un valor de pH bajo, es decir que las antocianinas son más estables a pH bajos y menos estables a pH altos. Se comprobó que el extracto de antocianinas del *C. cainito* es más estable a 70 °C y a pH 4.2 por alcanzar una reducción de la vida media y la constante de velocidad (Santos Cervera, 2023)

Otro estudio con el propósito de obtener las condiciones adecuadas y analizar las variables del proceso de extracción evaluaron los valores promedios del contenido de antocianinas totales el cual varió de 2.09 ± 0.11 hasta 3.06 ± 0.11 mg cianidina 3 glucósido/g de polvo liofilizado. Siguiendo la idea de que el uso de disolventes acidificados puede mejorar el proceso de extracción se empleó el etanol 70 % con HCl (1N) en una relación 85:15 (v/v) con el propósito de conservar el rendimiento de extracción y se logró confirmar que la estabilidad de las antocianinas de *C. cainito* depende de la temperatura y el pH asociado con la estructura química y la copigmentación. Se comprobó que las antocianinas de *C. cainito* fueron más estables a bajas temperaturas (4 °C) y pH=4.3, con una de vida media ($t_{1/2}$) de 40.83 ± 3.89 días, tiempo necesario para el 50 % de la degradación del pigmento en el extracto. Se observó que la muestra tiene poca estabilidad ante la luz, debido a que el tiempo de vida media es de sólo 0.93 ± 0.00 días expuesto a luz y 2.24 ± 0.07 días en ausencia de luz (Ku Canul, 2021).

2.6 Encapsulación

Las técnicas de encapsulación implican recubrir ingredientes activos específicos con un material de recubrimiento o matriz sensorial (Castromonte et al., 2020).

También es posible encapsular dos o más compuestos que puedan actuar sinérgicamente para aumentar su actividad biológica y utilizar más de un método de encapsulación para aumentar aún más la protección de los compuestos encapsulados, este método se denomina Co-encapsulación (Castromonte et al., 2020).

La encapsulación (figura 10) es una técnica utilizada para proteger los aditivos utilizados en la industria alimentaria. Cuenta con diversas aplicaciones en alimentos, entre ellas: conservación, enriquecimiento y liberación controlada de nutrientes en el tiempo, reducción de la higroscopicidad, innovación de sabores líquidos en polvo, duración en el transcurso de almacenamiento, mejora en las propiedades sensoriales y funcionales de los alimentos, etc. Los aditivos encapsulados más importantes en la industria alimentaria son: ácidos, colorantes, pigmentos, enzimas, microorganismos, sabores, especies, grasas y aceites, vitaminas, minerales, sales, edulcorantes, gases y agentes leudantes (Aldana et al., 2011).



Figura 10. Encapsulación de pigmentos con maltodextrina mediante liofilización

Los subproductos agroindustriales de origen vegetal durante mucho tiempo se ha considerado como residuos debido a que cuentan con pocas estrategias para su

reciclaje, disposición problemática y contaminación ambiental (Castromonte et al., 2020).

Los compuestos antioxidantes en los subproductos agroindustriales incluyen algunas vitaminas (C, A, E); los carotenoides, como el caroteno y la luteína, y los compuestos fenólicos, especialmente los ácidos fenólicos y los flavonoides, son un grupo con estructuras químicas y mecanismos de acción muy diferentes; este último se asocia a diversos mecanismos para inhibir o retardar. Una de las metodologías más comunes para concentrar los compuestos antioxidantes de los subproductos es el refinado de extractos, es decir, se pueden utilizar procedimientos de purificación en el proceso de estandarización y cuantificación para aumentar estas proporciones en relación con el valor esperado. Sin embargo, cuando estos extractos son extraídos de su matriz, se vuelven sensibles a ciertos factores ambientales que los vuelven inestables y pueden degradarlos o reducir su funcionalidad. Por otro lado los consumidores de hoy ya no demandan alimentos solo para cubrir necesidades nutricionales básicas, sino alimentos con beneficios adicionales para la salud, por lo que al estar encapsulados se mezclan los extractos antioxidantes como ingredientes en la elaboración de alimentos funcionales (Castromonte et al., 2020).

La microencapsulación es una tecnología que aprueba empaquetar y estabilizar materiales en forma de micras y nanopartículas, protegiéndolos de factores como la humedad, el color, la luz y la oxidación. Por otro lado, de esta manera se puede aumentar la disponibilidad de antocianinas en el intestino. En el envasado de alimentos se utilizan varios procedimientos, como la liofilización, el secado por aspersión y la coacervación compleja (Castagnini et al., 2019).

La microencapsulación se fundamenta en el desarrollo de microcápsulas en escala “micro” (100 a 500 micras). Las microcápsulas desarrolladas tienden a ser esféricas, delgadas y duras. Pueden tener varias estructuras, por ejemplo: Simple, simple irregular, múltiple, matriz simple, matriz agregada; esto dependerá de las características del material encapsulante como del objeto a envasar. Las tecnologías de microencapsulación más utilizadas en la industria alimentaria son la emulsificación,

extrusión, secado por aspersión, coagulación, inclusión molecular, cristalización, centrifugación, liofilización, etc (Zamora Vega & Rodiles López, 2020).

2.6.1 La liofilización como método de encapsulación de compuestos bioactivos

La liofilización se considera uno de los mejores métodos de secado para preservar a gran medida las propiedades organolépticas y nutricionales de los productos orgánicos. Los alimentos liofilizados se caracterizan por una baja actividad de agua, alta porosidad y estado cristalino (Mosquera-Vivas et al., 2019).

El proceso más común para producir colores liofilizados implica la extracción, filtración y concentración de pigmentos y, finalmente, la liofilización. En la tabla 6 se muestra la fuente de obtención de distintos pigmentos. Los vegetales son principalmente las fuentes de obtención, y los pigmentos más frecuentemente sometidos a este proceso suelen ser antocianinas, betalaínas, carotenoides y clorofilas (Ulric, 2021).

Tabla 6. Fuente vegetal de obtención de pigmentos

Color	Compuesto	Fuente de obtención
Rojo	Antocianina	Frambuesa (<i>Rubus ideaus</i> L.), Fresa (<i>Fragaria ananassa</i> Duch), Bayas (<i>Rubus glaucus benth</i>), uva (<i>Vitris labrusca</i>), Cereza, Grosella
	Betalaína	Pitahaya (<i>Hylocereus polyrhizus</i>), Higo Chumbo (<i>Opuntia ficus-indica</i>)
Lila	Antocianina	Bayas (<i>Vaccinum myrtillus</i>) (<i>Euterpe edulis Martius</i>) (<i>Ribes nigrum</i>), Zanahoria negra (<i>Daucus Carota</i> L.) Boniato lila (<i>Ipomoea batatas</i>), Col lombarda (<i>Brassica oleracea</i> Var. <i>Capitata f. rubra</i>)
Rosa oscuro	Antocianina	Arándano (<i>V.angustifolium</i> Aiton)
Rojo-Violeta	Betalaína	Remolacha

Rojo o azul	Antocianina	Uva (<i>Vitis labrusca</i>)
Amarillo al naranja	Betalaína	(<i>Opuntia megacantha</i>)
Amarillo al rojo	Carotenoide	Flores (<i>Tagetes erecta</i> L.) (<i>Hemerocallis disticha</i>)
Amarillo	Carotenoide	Azafrán (<i>Crocus Sativus</i> L)
Naranja	Carotenoide	Peladura de naranja, Boniato, Zanahoria, Papaya
Rojo-naranja	Carotenoide	Sandía, Pimiento (<i>Capsicum annuum</i> L.)
	Melanina	Hojas de té (<i>Camellia sinensis</i> L.)
Marrón	Antocianina	Arroz negro
Verde amarillento	Carotenoide	Alga marrón (<i>Sargassum</i> sp.)
		Espinaca, Alga verde, Algas (<i>Diatoms</i>)
Verde	Clorofila	(<i>Bacillariophyceae</i>) (<i>Prymnesiophyceae</i>), Plancton

(Ulric, 2021)

El proceso de liofilización consiste principalmente en la congelación del alimento y su posterior deshidratación por sublimación. Debido a la falta de agua líquida y la baja temperatura requerida para la liofilización, la mayoría de las reacciones microbianas y de deterioro se retrasan, lo que da como resultado un producto final de alta calidad (Mosquera-Vivas et al., 2019).

Un diagrama de fases indica los estados físicos bajo condiciones de presión y temperatura, y de igual manera la dependencia de presión de las temperaturas de transición de fase líquido-gas (ebullición), sólido-líquido (fusión) y sólido-gas (sublimación) de una sustancia. En la ebullición como se observa en la figura 12 la curva vaporización/condensación indica la presión de vapor frente la temperatura, separando las regiones líquida y gaseosa proporcionando el punto de ebullición del agua a cualquier presión; la curva fusión/congelación muestra las temperaturas y presiones a las que el hielo y el agua líquida están en equilibrio y la curva sublimación/deposición indica las temperaturas y presiones a las que el hielo y el vapor de agua están en equilibrio. Afirmando que la sublimación es un cambio endotérmico directo de un sólido a un gas, sin pasar por el líquido (Flower et al., 2022). La

lioofilización es un proceso establecido en el fenómeno físico de la sublimación y se utiliza en la industria para deshidratar materiales de un determinado producto. La liofilización minimiza la pérdida de componentes volátiles o termo-sensibles del producto (Figura 13), así como minimizar el crecimiento biológico y las reacciones químicas, lo que permite el almacenamiento sin cadena de frío (Ulric, 2021).

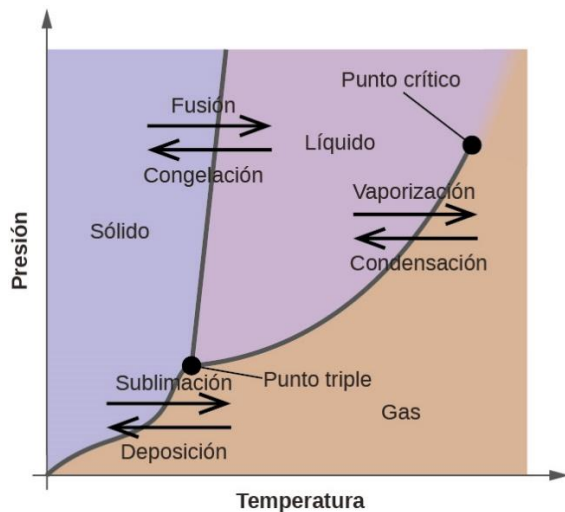


Figura 11. Diagrama de fases del agua
(Flower et al., 2022)



Figura 12. Liofilización
(Chi, 2023)

La adicción de la maltodextrina es beneficiosa para la liofilización debido a que previene la desnaturalización de las proteínas. Los productos de control biológico usan este método para competir comercialmente con los productos químicos consiguiendo tener una posibilidad de una vida útil mínima de uno a dos años a temperatura ambiente (Leiva-Espinoza et al., 2021).

2.6.2 Maltodextrina como agente encapsulante

Los materiales de encapsulación más comunes son proteínas como la gelatina y el suero de leche; diferentes tipos de goma como la arábica, acacia y alginatos, lípidos como cera y lecitina, polisacáridos como celulosa, almidón y sus derivados (ciclodextrina y maltodextrina). La maltodextrina es un carbohidrato que se obtiene a partir de diversos almidones (maíz, patata, u otros) que radican en 5-10 unidades de β -D-glucosa unidas por puentes de glucosídicos unidades de glucosa por molécula (L. Diaz et al., 2017).

La maltodextrina tiene un alto rango de ser soluble en agua, baja viscosidad, formador de película, sabor suave, alto contenido de sólidos, bajo contenido de azúcar, fácilmente digerible, forma una solución incolora, además de que el precio es económico y hay disponibilidad en el mercado debido a su amplio manejo como agente de encapsulación para microencapsulación de diversas sustancias en la industria alimentaria. En la figura 13 se observa la encapsulación con el polvo de antocianinas de caimito y en la figura 14 la encapsulación con solo el polvo de maltodextrina en ácido cítrico (L. Diaz et al., 2017).



Figura 13. Maltodextrina con antocianinas
(Chi, 2023)

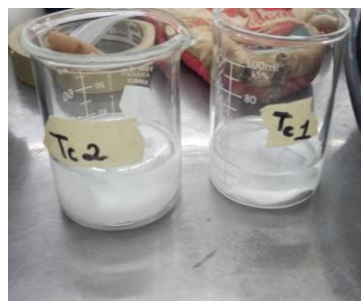


Figura 14. Maltodextrina con ácido cítrico
(Chi, 2023)

La elección de la maltodextrina como agente encapsulante depende principalmente del ingrediente activo a encapsular, y condiciones del proceso; comercialmente, la maltodextrina se clasifica como contenido de equivalente de dextrosa (ED). Cuando la maltodextrina es con $ED < 10$ se utiliza como sustituto de la grasa, mientras que la maltodextrina con $ED > 10$ es muy utilizada como agente de encapsulación para proteger y estabilizar compuestos de interés como los polifenoles (L. Diaz et al., 2017).

La maltodextrina (RMD) es una fibra fermentable y soluble en agua, debido al almidón de maíz que se trata térmicamente, no se digiere en el intestino delgado, pero se fermenta en el intestino grueso que aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta (Betelu Cuervo, 2021).

La estructura molecular (Figura 15), es una pequeña porción de sacáridos con un grado de polimerización (DP) 1-9 y muchos polisacáridos con grado de polimerización menor de 10, donde las moléculas D-glucosa se encuentran unidas por enlaces glucosídicos- α (1-4). Tiene una distribución aleatoria de enlaces 1-2 y 1-3, que se forman durante la dextrinización y enlaces 1-4 y 1-6 de forma natural en el almidón (Betelu Cuervo, 2021).

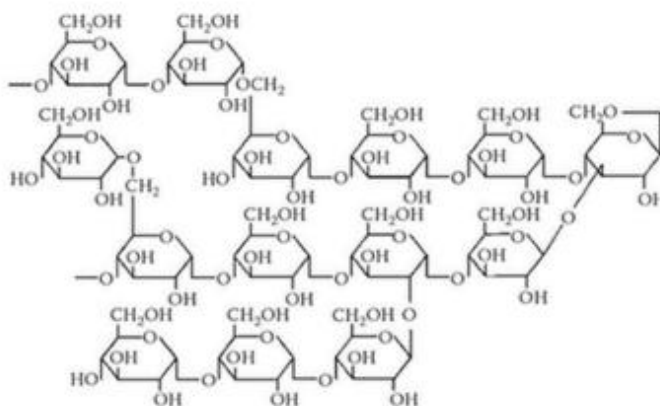


Figura 15. Estructura química de RMD de maltodextrina

2.6.3 Investigaciones recientes de encapsulación de antocianinas usando liofilización y maltodextrina

Algunos estudios realizados según los autores recomiendan usar una mezcla de goma arábica y maltodextrina debido a que es un material de pared ampliamente utilizado en la industria de alimentos por su eficiencia para encapsular compuestos bioactivos, proporciona polvos con menor humedad relativa y mayor densidad aparente, además tiene buena relación costo/beneficio y disponibilidad, teniendo como propósito que se encapsula mediante el método de liofilización; en la tabla 7 se muestran investigaciones sobre la microencapsulación de antocianinas a partir de subproductos vegetales utilizando maltodextrina.

Tabla 7. Estudios recientes sobre la microencapsulación de antocianinas extraídas de diversas matrices vegetales

Material	Condiciones de microencapsulación	Hallazgos más importantes	Referencia
Cáscara de berenjena	En una relación de 20:80 se utilizó extracto concentrado	De un polvo fino constituido por partículas en forma de microesferas se obtuvo	

<i>(Solanum melongena)</i>	y matrices poliméricas (consiste en un polímero incorporado a una fase de refuerzo como fibras o polvos) se aplicó la maltodextrina como matriz homogénea (un elemento constituido por un solo componente y con las mismas propiedades), mientras que una mezcla 50:50 de maltodextrina y goma arábica como matriz heterogénea (elemento constituido por dos componentes con diferentes propiedades).	eficiencia de microencapsulación con 91.28 % en la mezcla 50:50, mientras que con maltodextrina 79.85 %. De igual manera se observó que la temperatura óptima para la atomización está en intervalo de 80 a 90 °C para antocianinas en poco tiempo de (5-30 s).	(Telenchana Pérez, 2019)
Frijol rojo <i>(Phaseolus vulgaris L.)</i>	Se empleó 20:80 (matriz polimérica/ extracto concentrado), considerando que la matriz polimérica es	Se alcanzó eficiencia de microencapsulación mayor en la mezcla 50:50 (maltodextrina - goma arábica) con 92.52 %, y en la maltodextrina de 70.76 %. De acuerdo con el ensayo	(Moreno Villacís, 2020)

	maltodextrina y una mezcla de 50:50 de maltodextrina - goma arábica.	DPPH (<i>in vitro</i>), se arrojó un valor de 232.78 para la maltodextrina y 352.82 μmol equivalentes de Trolox/g para la mezcla. También las antocianinas alcanzaron una actividad antiinflamatoria de 93.70 % con maltodextrina a una concentración de 2.5 mg/mL y las de mezcla de goma arábica 90.95 % a concentración de 1.5 mg/mL.	
Cáscara de pitahaya roja (<i>Hylocereus undatus</i>).	Para la formación de microesferas se usó maltodextrina y goma arábica. En una relación de (masa/volumen-velocidad/distribución) de 1:25 con tiempo de 120 min.	Se obtuvo 58.60 % en radicales libres de inhibición DPPH con la maltodextrina es decir 405.01 $\mu\text{mol/l}$ equivalentes de Trolox, mientras que, en el caso de la goma arábica presentó 72.22 %, en Trolox 498.33 $\mu\text{mol/l}$. En la microencapsulación Mostraron una eficiencia de 77.35 % y 94.23 %, resultando con mayor eficiencia las microesferas con goma arábica.	(Figueroa Haro, 2020)
El agraz (<i>Vaccinium meridionale Swartz</i>)	Se utilizó Maltodextrina y Goma arábica como agentes encapsulantes	Los polvos liofilizados con mezcla de maltodextrina-goma arábica mostraron características fisicoquímicas adecuados para productos en	(Estupiñan Amaya, 2022)

	separados y una mezcla de ambos maltodextrina-goma arábica en proporciones (20, 30, 40 y 50 %)	polvo con baja actividad acuosa, alta solubilidad en agua y fluidez. Se encontró como ventaja una alta actividad antioxidante y eficiencia de encapsulación en polifenoles, pero como desventaja en las antocianinas se encontró menor contenido antioxidante y menor eficiencia de encapsulación; Al emplear como agentes la maltodextrina y goma arábica por separado se mostró mayor eficiencia en la encapsulación tanto de antocianinas y polifenoles. En las muestras con 30 % y 50 % de maltodextrina mostraron mayor encapsulación de antocianinas con 89 % de eficiencia y 98 % en polifenoles, resultando más alto la encapsulación de muestra con maltodextrina y con mejores propiedades de fluidez.
Pulpa de carambola (<i>Averrhoa carambola</i> L.)	Adición de maltodextrina y goma arábica como materiales de pared individual para	Con la adición individual de maltodextrina y goma arábica en la pulpa de carambola se logró disminuir su higroscopicidad en los

microencapsular la pulpa de carambola comparando su efectividad.	productos y evitar el oscurecimiento de las microcápsulas como material de pared durante su almacenamiento; sin embargo, las microcápsulas con goma arábica tuvieron poca variación total en el color utilizando la escala CIELAB. Las microcápsulas de la pulpa de carambola a los 60 días de almacenamiento en ambas paredes de microencapsulación mostraron contenido de retención de carotenoides superficiales, con maltodextrina obtuvieron 14.24 % y con goma arábica una eficiencia de 94.14 %. En retención de ácido ascórbico y polifenoles fue similar en las microcápsulas con goma arábica y maltodextrina 80-88 % respectivamente.	(Porras Trujillo, 2012)
--	---	-------------------------

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

-Evaluar las propiedades bioactivas de extracto de antocianinas de *C. cainito* encapsulado mediante liofilización a diferentes concentraciones de maltodextrina.

3.2 Objetivos específicos

-Obtener extractos de antocianinas de *C. cainito* encapsuladas por liofilización a diferentes concentraciones de maltodextrina (20, 50 y 70 % p/v).

-Comparar el contenido de antocianinas totales, antocianinas por HPLC, compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante (ABTS y poder reductor) de polvos encapsulados.

4. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha reportado en la literatura científica la obtención de antocianinas de diversas fuentes vegetales como bayas, cerezas, melocotones, uvas, granadas, grosella, arándanos, uvas, ciruelas y caimito. Por lo general, estos pigmentos se han utilizado en la industria farmacéutica, industria alimentaria y cosmética. Sin embargo, se ha reportado que las antocianinas presentan una alta inestabilidad a ciertos factores ambientales como temperatura, luz, pH, su propia estructura química, entre otros.

El fruto de caimito tiene una apariencia similar al de una ciruela, su nombre se deriva de taínas “Caimitu” que significa jugo, “im” que significa teta y “Vitis” resina. En el sureste de México se ha encontrado dos variedades del fruto: de cáscara color verde y la de color morado. *C. cainito* es una planta cultivada por pequeños productores y su fruto es distribuido ampliamente en mercados locales para su consumo como pulpa fresca. Generalmente el procesamiento o consumo del fruto genera un residuo de aproximadamente 53.26 % del peso total. La producción nacional de cosecha del fruto de caimito en una sub-cosecha de 37.50 hectáreas logra obtener una producción de 211.20 (Ton) del fruto, beneficiando a los productores con un alto rendimiento de 5.63 (Ton/Ha), en promedio el precio rural pagado al productor es alto con 3,268.80 (\$/Ton) y en economía, el valor de producción requerido es de 690.37 miles de pesos. Recientemente, se ha informado que las cáscaras de *C. cainito* son fuente importante de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos y antocianinas. Se ha reportado que el extracto metanólico de *C. cainito* inhibió la actividad de transcriptasa inversa del virus de la inmunodeficiencia humana. Estos antecedentes promueven el aprovechamiento de la cáscara para el desarrollo de alimentos funcionales o productos farmacéuticos por sus diversos beneficios en la salud del ser humano. Existe un gran interés por estudiar la conservación del pigmento antociánico que se obtiene de la cáscara de caimito; sin embargo, se ha encontrado el problema de mantener la estabilidad de extractos de antocianinas de *C. cainito* al ser expuesta a la luz, temperatura, el pH y tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, es conveniente proponer una estrategia para aumentar la estabilidad de las antocianinas del caimito y

potencializar su aplicación. La liofilización es considerada una técnica de encapsulación de pigmentos como las antocianinas. Sin embargo, para obtener microcápsulas es necesario establecer los niveles de concentración del material de pared (por ejemplo, maltodextrina) y la concentración del pigmento antociánico. Se espera que el proceso de liofilización sea una alternativa para encapsular y proteger al extracto de antocianinas de *C. cainito* ante efectos que afectan su estabilidad y como consecuencia ampliar su aplicación en la industria.

Considerando los antecedentes es conveniente encapsular el extracto de *C. cainito* con la liofilización, utilizando diferentes concentraciones de maltodextrina para mantener su concentración y sus propiedades bioactivas en el tiempo, reducción de la higroscopicidad, mejorando las propiedades sensoriales y funcionales.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

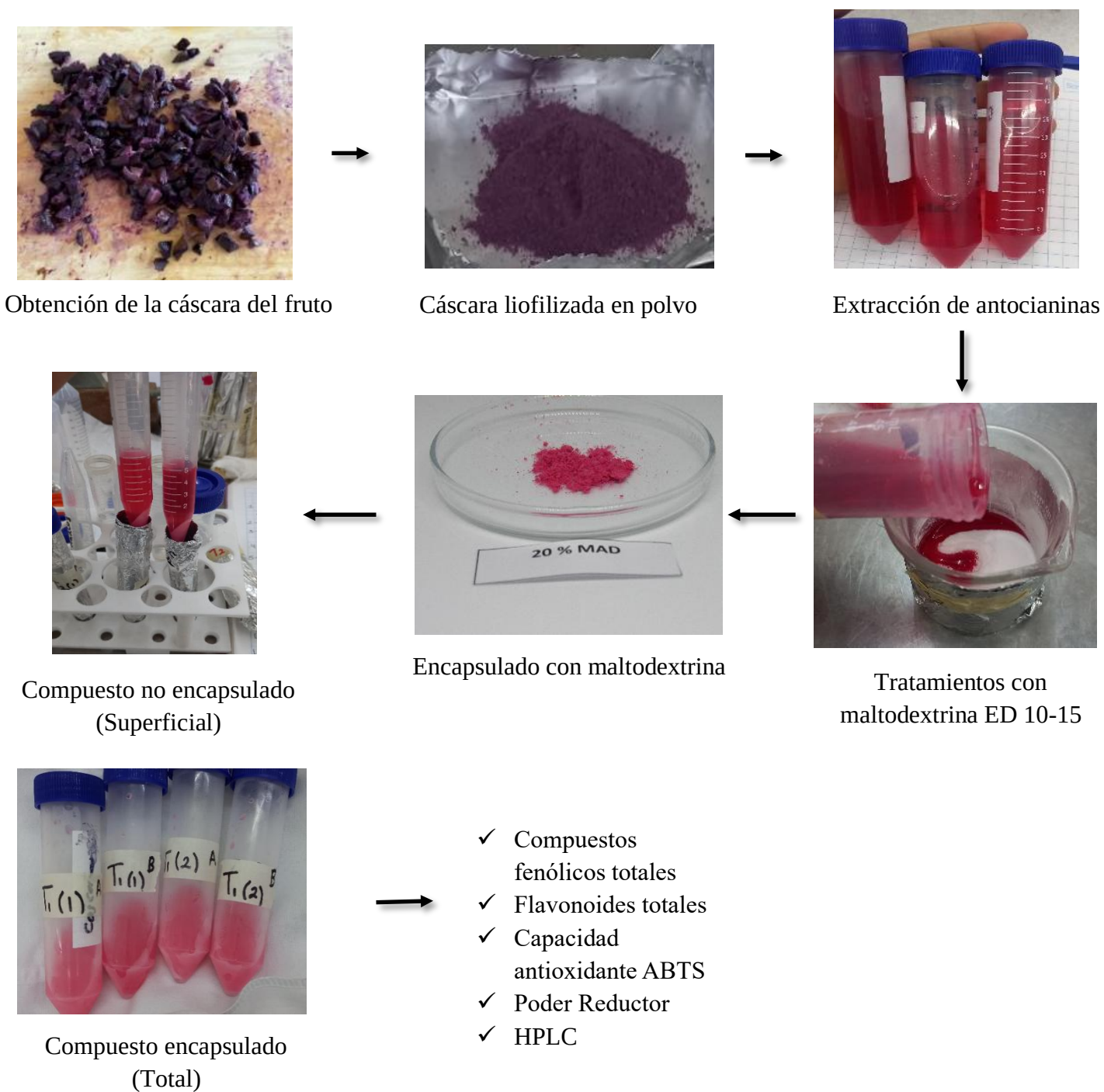


Figura 16. Estrategia general del trabajo.

5.1 Obtención de Caimito

Los frutos del árbol de caimito (*Chrysophyllum cainito L*) se recolectaron en la región de Calkiní, Campeche durante abril de 2023. Se seleccionaron frutos de color morado y libre de daños físicos en su cáscara. Los frutos se lavaron con agua corriente y se dejaron secar a temperatura ambiente. La cáscara se obtuvo de forma manual separando las semillas y la pulpa, cortando la cáscara en pequeñas secciones para después congelarlas y mantenerlas conservadas hasta su liofilización. La cáscara liofilizada se trituró con un molino (Hamilton Beach Ostr 125 watts) para obtener el polvo y se almacenó a -20 °C hasta la extracción.

5.2 Extracción de antocianinas

Se pesaron 3 g de polvo liofilizado de cáscara de caimito y se mezcló con una solución de 207.33 mL de ácido cítrico previamente preparado al (1.06 % p/v) en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. El matraz con la muestra se colocó en un baño de ultrasonido (MCA CScientific, CS-UB100) de 10 L, seguidamente la extracción se realizó durante 24 min a 30 °C con una amplitud ultrasónica de 30 % (frecuencia de 40 kHz). Al terminar la extracción, la mezcla se centrifugó a 3,900 rpm durante 10 min a 25 °C para obtener el sobrenadante (extracto de antocianinas). El extracto centrifugado de 172 mL se congeló a -20 °C durante 48 h con protección a la luz hasta su liofilización (Estupiñan Amaya, 2022).

5.3 Tratamientos con maltodextrina ED 10-15

El extracto liofilizado (obtenido del volumen de 172 mL) fue re-disuelto en agua destilada hasta alcanzar un volumen de 20 mL. Se prepararon tres extractos de antocianinas (con una réplica) y se asignaron a un tratamiento con 20 %, 50 % y 70 % de maltodextrina (ED = 10) como agente de material de pared (tabla 8). Cada mezcla se homogeneizó mediante agitación magnética en un vaso precipitado a 25 °C durante 2 h. Para cada tratamiento se realizó un control sin extracto de antocianinas. A cada mezcla se le determinó los sólidos solubles totales (°Brix) utilizando un refractómetro digital (BRIX 0-95 % RX-5000 Atago 3251). La mezcla homogeneizada se congeló a -20 °C durante 24 h y posteriormente, se liofilizó hasta obtener el encapsulado del

extracto de caimito. Las muestras secas se trituraron con un mortero y el polvo se colocó en viales ámbar y se almacenó a -20 °C hasta su análisis (Hamid et al., 2020).

Tabla 8. Tratamientos de encapsulación de extracto de antocianinas en Maltodextrina

<i>Tratamiento</i>	<i>T1 (20 %)</i>	<i>T2 (50 %)</i>	<i>T3 (70 %)</i>
Extracto (mL)	20	20	20
Maltodextrina (g)	4	10	14

Para el tratamiento 1, 2 y 3 se obtuvo un peso de encapsulado de 6.6 g, 11.5 g y 16.28 g, respectivamente.

5.4 Extracción de compuestos no encapsulados (Superficial) y encapsulados (Totales)

a) Compuesto no encapsulado superficial (ECS)

500 mg de polvo se mezcló en 10 mL de una solución etanol:metanol (1:1, v/v), agitado en un vórtex durante 1 min y centrifugado durante 2 min a 3,000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se aforó a 10 mL con el mismo disolvente de extracción. El contenido de ECS se determinó por el método de pH diferencial y por HPLC Uv-Vis.

b) Compuesto encapsulado total (ECT)

500 mg de polvo se mezcló en 5 mL de una solución metanol: ácido acético: agua destilada (50:1:49, v/v/v), agitado en un vórtex durante 1 min, sonificado durante 20 min (25 °C a 100 % amplitud), centrifugado durante 5 min a 4,000 rpm y entonces, se recuperó el sobrenadante. El sedimento (pellet) se sometió a otra extracción. Los sobrenadantes de ambas extracciones se juntaron y se aforaron a 10 mL con el mismo disolvente.

5.5 Método pH diferencial-Antocianinas totales

La concentración de antocianinas totales se determinó por el método de pH diferencial reportada por Giuti y Wroslad (2001), donde la antocianina experimenta una transformación reversible en función del pH manifestado por cambio en la absorbancia,

la forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5 (Paulino, 2017). Se utilizó dos sistemas de buffer: cloruro de potasio (pH 1.0) y de acetato de sodio (pH 4.5). Una alícuota de 500 µL del extracto fue diluido en 4.5 mL de respectivas soluciones buffer, obteniendo un volumen final de 5 mL en cada muestra. Las muestras se mantuvieron en reposo durante 15 min a 25 °C protegidas de la luz, posteriormente, se realizó la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Technologies Cary 60 a las longitudes de onda de 520 y 700 nm, empleando agua destilada como blanco (Ku Canul, 2021).

5.6 Identificación y cuantificación de antocianinas individuales por HPLC

La identificación de las antocianinas individuales fue realizada de acuerdo con el método establecido por Collison et al. (2015), con un sistema HPLC Thermo Scientific, modelo Dionex Ultimate 3000. Se tomaron una alícuota de 4 mL de extracto de antocianinas (no se hicieron diluciones) del extracto obtenido de la sección 5.4 y se filtraron con filtros Millipore de 0.45 µm (GMF, Whatman) previo a su inyección. Los extractos se analizaron con las siguientes condiciones cromatográficas: columna Eclipse XDB (C18 4.6 µm x 250 mm). Se utilizó para la separación una temperatura de columna de 40 °C, los compuestos fueron monitoreados a 520 nm para las antocianinas; velocidad de flujo de 0.5 mL/min; el volumen de inyección de 50 µL; la fase móvil A: ácido fórmico 2 % en agua HPLC (2:98, v / v) y fase B, ácido fórmico al 2 % en acetonitrilo/ metanol (50:50, v/v) grado HPLC. El gradiente de elución fue 0-2 min 90 % de A y 10 % de B, 4 min 80 % de A y 20 % de B, 24-28 min 50 % de A y 50 % de B, 30-40 min 90 % de A y 10 % de B (Pastrana Bonilla & Gutiérrez Guzmán, 2009).

Para la cuantificación, el resultado fue expresado como mg equivalentes a Cianidina 3-glucósido/100 mL de extracto y mg/100 g de polvo, mediante una curva de calibración con concentraciones conocidas de 2, 5, 10, 20 y 30 ppm de Cianidina 3-glucósido.

5.7 Compuestos fenólicos solubles totales (CFT)

Se determinó mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi (1965), modificado por González-Aguilar et al. (2007). Una alícuota de 50 µl de extracto de antocianinas microencapsuladas se diluyó en 3 mL de agua destilada y con 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (1N), dejando reposar durante 5 min a 25 °C. Posterior al tiempo de equilibrio, se adicionaron 750 µL de Na₂CO₃ (20 %, p/v H₂O) y 950 µL de agua destilada, el cual se dejó reposar durante 30 min en oscuridad a 25 °C. Se midió la absorbancia de la solución a 765 nm con un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Technologies Cary 60. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g de polvo seco PS. En el caso de la determinación en los compuestos encapsulados (ECT), se diluyó la muestra T1 (20 %) 10 veces (500 µL de extracto con 9,500 µL de disolvente). La curva de calibración se realizó con concentraciones conocidas entre 100 y 1000 ppm de ácido gálico (Hamid et al., 2020).

Tabla 9. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de *C. cainito* para análisis de CFT.

Antocianinas	T1	T2	T3
ECS	Sin dilución	Sin dilución	Sin dilución
ECT	Alícuota de 500 µL del extracto con 9500 µL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.	Sin dilución	Sin dilución

5.8 Contenido de flavonoides totales

Se determinó con base al método descrito por González-Aguilar et al. (2007). 1 mL del extracto de antocianinas (AT) de las microcápsulas se mezcló con 4 mL de agua destilada y 300 µL de nitrito de sodio NaNO₂ (5 % v/v, H₂O) dejando reposar durante 5 min. Posterior al tiempo de equilibrio, 300 µL de la disolución de cloruro de aluminio

AlCl_3 (10 % v/v, en metanol) se adicionó a la mezcla. Después de 1 min, se adicionaron 2,000 μL de hidróxido de sodio NaOH 1 M y 2,400 μL de agua destilada, la mezcla se homogeneizó y se leyó a una absorbancia de 415 nm con un espectrofotómetro UV-Vis Angilet Technologies Cary 60. En el caso de la determinación en los compuestos encapsulados (ATE) se diluyó la muestra T1 (20 %) 20 veces (500 μL de extracto con 9500 μL disolvente). La concentración de flavonoides totales se expresó como mg equivalentes de Quercetina (EQ)/100 g de polvo seco utilizando una curva de calibración con patrones de Quercetina con concentraciones de 25-300 ppm.

Tabla 10. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de *C. cainito* para análisis de FT.

Antocianinas	T1	T2	T3
ECS	Sin dilución	Sin dilución	Sin dilución
ECT	Alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL. Segunda dilución: de la primera se toma un alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.	Sin dilución	Sin dilución

5.9 Capacidad antioxidante ABTS

Se determinó la capacidad antioxidante de los extractos de las microcápsulas empleando la metodología según Miller et al. (1993). El catión $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) se obtuvo mezclando 19.2 mg de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ con 5 mL de agua destilada y 88 μL de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (0.0378 g/mL). La solución se homogeneizó y se incubó en obscuridad a temperatura ambiente durante 16 -18 h. Entonces 1 mL de esta solución de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se diluyó en 100 mL de

etanol absoluto. El radical se ajustó a una absorbancia de 0.7 ± 0.2 a 734 nm. En un tubo de ensayo se depositaron 30 μL de extracto de antocianinas y 2,970 μL de la solución ABTS•+ ajustado, agitando en vortéx por pocos segundos. Tras ajustar el blanco con etanol absoluto, se tomaron lecturas con un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Technologies Cary 60 a 734 nm. La disminución de la absorbancia a 734 nm se midió hasta que las variaciones de absorbancia estuvieron en torno a 0.003/minuto (45 min), lo cual indicaría que la reacción se ha completado (Schlesier et al., 2002). El resultado se expresó como mM Trolox/100 g de muestra usando una curva de calibración con patrones de trolox con concentraciones entre 0 y 60 μM ET/mL (Ochoa & Guerrero, 2012). En el caso de la determinación en los compuestos encapsulados (ATE) se diluyó las muestras (20 %, 50 %, 70 %) 20 veces (500 μL de extracto con 9,500 μL de disolvente).

Tabla 11. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de *C. cainito* para análisis de ABTS.

Antocianinas	T1	T2	T3
ECS	Sin dilución	Sin dilución	Sin dilución
ECT	Alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL. Segunda dilución: de la primera se toma un alícuota de 500 μL del	Alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL. Segunda dilución: de la primera se toma un alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente	Alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL. Segunda dilución: de la primera se toma un alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente

	extracto con 9500 μ L de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.	(metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.	(metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.
--	--	--	--

5.10 Capacidad antioxidante Poder Reductor

La evaluación del poder reductor del ion férrico (Fe^{3+}) se determinó mediante la metodología de Oyaizu (1986). Una alícuota de 2.5 mL de extracto de antocianinas AT se mezcló con 2.5 mL de buffer de fosfato (0.2 M, pH 6.6) y con 2.5 mL de ferricianuro de potasio (1 % v/v, H_2O) utilizando un vórtex. Después de un período de incubación de 20 min (55 °C), a la mezcla reaccionante se le adicionaron 2.5 mL de ácido tricloroacético (10 % v/v, H_2O) y se homogeneizó con un vórtex por pocos segundos. De esta solución se tomaron 5 mL y se mezclaron con 5 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregó 1 mL cloruro férrico (0.1 % v/v, H_2O), el cual se dejó reposar durante 10 min en obscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 700 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Technologies Cary 60. El incremento de esta variable da a entender un aumento en el poder reductor de los extractos. El resultado fue expresado mg equivalente a ácido ascórbico/100 g de polvo (Hamid et al., 2020).

En el caso de la determinación de los compuestos superficiales (AS) se diluyó el T1 (20 %), 10 veces (500 μ L de extracto con 9,500 μ L de disolvente). Mientras que en la determinación en los compuestos encapsulados (ATE) el T1 se diluyó 20 veces.

Tabla 12. Dilución de los extractos ECS Y ECT de diferentes tratamientos de encapsulación de antocianinas de *C. cainito* para análisis de PR.

Antocianinas	T1	T2	T3
ECS	Alícuota de 500 μ L del extracto con 9500 μ L	Sin dilución	Sin dilución

	de disolvente (Etanol: metanol) y se aforo a 10 mL.		
ECT	Alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL. Segunda dilución: de la primera se toma un alícuota de 500 μL del extracto con 9500 μL de disolvente (metanol: ácido acético: agua) y se aforo a 10 mL.	Sin dilución	Sin dilución

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Contenido de CFT y FT

La figura 17 A y 17 B muestra la comparación del contenido CFT y FT de ECS y ECT del encapsulado de AT utilizando diferentes concentraciones de MAD. Se encontró que el nivel de MAD afectó significativamente el contenido de CFT (figura 17 A) y FT (figura 17 B) en los encapsulados ECS y ECT. Para cada nivel de MAD, el mayor contenido de CFT y FT resultó para encapsulados ECT. Para ECS y ECT, a mayor concentración de MAD se encontró una disminución del contenido de CFT (de 294.34 a 24.89 mg EAG/100 g y de 3,154.45 a 923.22 mg EAG/100 g, para 20 y 70 % MAD, respectivamente) y FT (de 218.64 a 21.86 mg EQ/100 g y de 2,437.14 a 867.57 mg EQ/100 g, para 20 y 70 % MAD, respectivamente). La disminución del CFT y FT de los encapsulados se atribuye al efecto de dilución por el incremento de la concentración de maltodextrina.

Los resultados demostraron que el polvo de maltodextrina (MAD) tuvo una alta eficiencia de encapsulación de CFT y FT, logrando atrapar los compuestos bioactivos del *C. cainito* encapsulados, obteniendo valores de 90.66 (20 MAD), 95.79 (50 MAD) y 97.30 (70 MAD) % de eficiencia para CFT, y 91.03 (20 MAD), 97.60 (50 MAD) y 97.48 % (MAD) de eficiencia para FT. El tratamiento que consistió en una encapsulación de antocianinas con el 20 % MAD presentó el mayor contenido de CFT y FT de ECT en comparación al resto de los tratamientos, sin embargo, se observó un efecto contrario en la evaluación del contenido de bioactivos en ECS, donde el aumento de porcentaje de MAD utilizada, disminuyó el contenido de CFT y FT. Los valores de CFT y FT para sólo MAD sin antocianinas resultaron ser no detectados. Los resultados obtenidos están de acuerdo con los reportados por (Arrazola et al., 2014), quienes encontraron que el uso de maltodextrina contribuye en la encapsulación de antocianinas. Estos hallazgos sugieren que la encapsulación con maltodextrina es una técnica efectiva para proteger y preservar los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en la cáscara de caimito. (Quispe et al., 2024) encontraron que hay poca variación en el

contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales de encapsulados de coronta de maíz morado utilizando niveles de MAD-goma de tara entre 6 y 10 %, este resultado era de esperarse por la poca diferencia entre la concentración utilizada de materiales de pared.

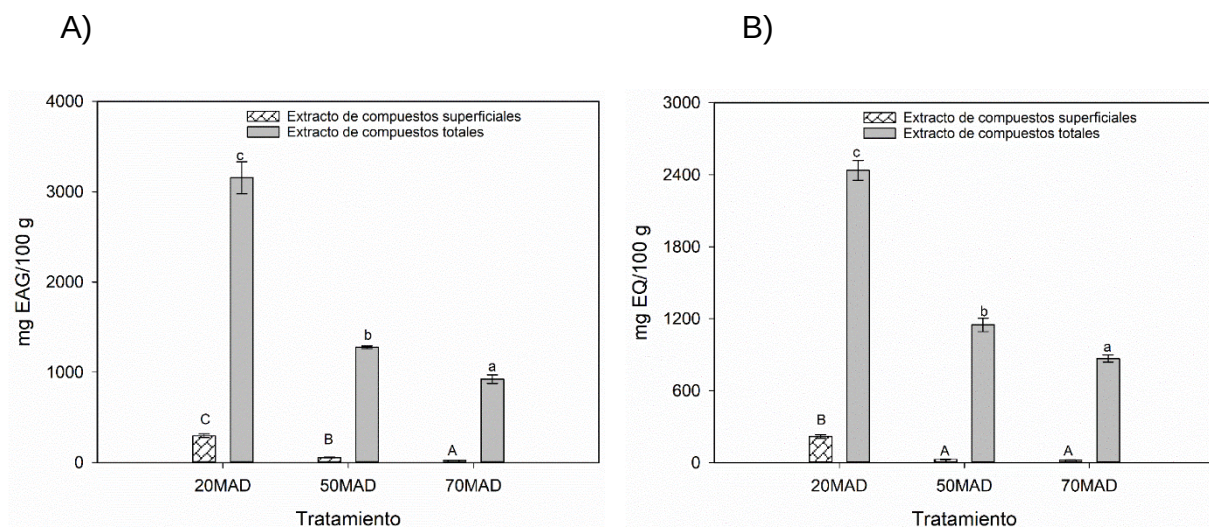


Figura 17. Comparación de CFT (A) y FT (B) (ECS y ECT) de diferentes tratamientos de encapsulación con MAD de antocianinas de *C. cainito*

6.2 Capacidad antioxidante ABTS y poder reductor

La figura 18 A y 18 B muestra la comparación de la capacidad antioxidante ABTS y PR de encapsulado ECS y ECT a diferentes concentraciones de MAD. El nivel de MAD afectó significativamente los valores de capacidad antioxidante en ambos métodos para los encapsulados ECS y ECT. Dentro de cada nivel de MAD, la mayor capacidad antioxidante ABTS y PR resultó para encapsulados ECT. Para ECS y ECT, a mayor concentración de MAD se encontró una menor capacidad antioxidante ABTS (de 16.38 a 5.15 mg EAA/100 g y de 312.53 a 181.30 mg EAA/100 g, para 20 y 70 % MAD, respectivamente) y PR (de 5.78 a 0.09 mM trolox/100 g y de 27.76 a 1.07 mM trolox/100 g, para 20 y 70 % MAD, respectivamente).

Después de la formación del radical ABTS, la solución mostró un color intenso verde-azul; mientras que cuando el radical ABTS reacciona con el extracto de los compuestos del encapsulado se observó una decoloración (Mejía Reyes et al., 2021).

Ambos ensayos ABTS y PR son utilizados para medir la capacidad antioxidante, el primero mide la capacidad para neutralizar radicales libres, mientras que el segundo ensayo PR mide la capacidad para reducir iones de hierro. El ensayo poder reductor su reacción se lleva a cabo en un medio ácido y para la reacción del ABTS se lleva a cabo en un medio acuoso.

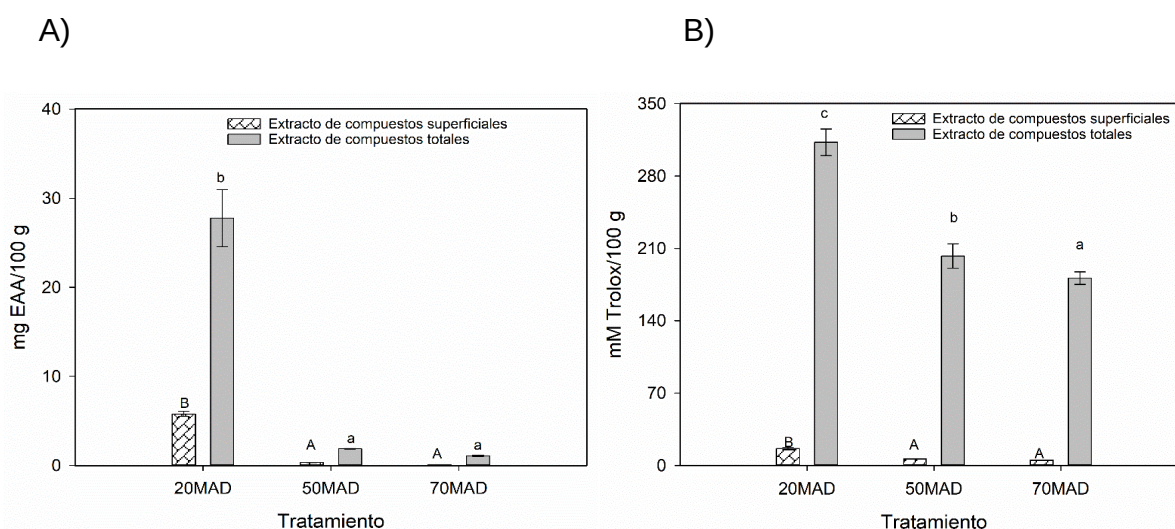


Figura 18. Comparación de capacidad antioxidante PR (A) y ABTS (B) (ECS Y ECT) de diferentes tratamientos de encapsulación con MAD de antocianinas de *C. cainito*.

De los tratamientos analizados, el tratamiento con 20 % MAD muestra mayor capacidad antioxidante ABTS y PR en comparación a los otros tratamientos con 50 % y 70 % MAD.

En estudios realizados (Aguirre & Gil Garzón, 2020) reportaron cómo la pulpa del fruto de arazá (*Eugenia stipitata*) microencapsulada a una proporción (1:9), con maltodextrina y goma arábiga (cada una individual) y una temperatura de secado de 100 °C, presentó una mayor eficiencia de microencapsulación con MD en comparación

a la goma arábica, ya que esta conserva el contenido CFT y la capacidad antioxidante, conservando el 61 % de los CFT y el 101 %, 85 % y 31 % de capacidad antioxidante según los métodos de prueba ABTS, FRAP y DPPH, respectivamente.

6.3 Determinación de cianidina 3 glucósido en encapsulados por HPLC y eficiencia de encapsulación de *C. cainito*

La figura 19 A muestra la comparación del contenido de cianidina 3 glucósido (C3G) por HPLC de ECS y ECT y la figura 19 B muestra la eficiencia de encapsulación utilizando diferentes concentraciones de MAD. Dentro de cada nivel de MAD, el mayor contenido de C3G resultó para 20 % MAD (76.16 mg/100 g), especialmente para ECT. A mayor concentración de MAD se encontró menor contenido C3G para ECS y ECT.

En otro resultado, se encontraron diferencias significativas en la eficiencia de encapsulación entre tratamientos (Figura 19 B). Al comparar los tratamientos, la mayor eficiencia de encapsulación de antocianinas se obtuvo con T2 (97.16 %) y T3 (97.42 %). Es decir, a mayor concentración de MAD se logró una mejor encapsulación.

En estudios realizados (Rodríguez et al., 2011) compararon la concentración de Cianidina 3-glucósido en el grano y coronta de 7 germoplasmas (12 muestras) de *Zea mays L.* “maíz morado” mediante HPLC. Como fase móvil se empleó una solución A (HCOOH/H₂O/MeOH proporción 1:4:5) y una solución B (HCOOH/H₂O) proporción 1:9) con 20 min de recorrido, mediante método ANOVA se determinó una diferencia significativa entre las concentraciones de las diferentes muestras que varía entre 29,21 y 147,57 mg/100g en el grano y entre 409,61 y 3083,82 mg/100g para la coronta. La mayor concentración de C3G en las muestras de grano resultó para “línea 9”, mientras que en las muestras de coronta resultó para “sintético amplio”.

A)

B)

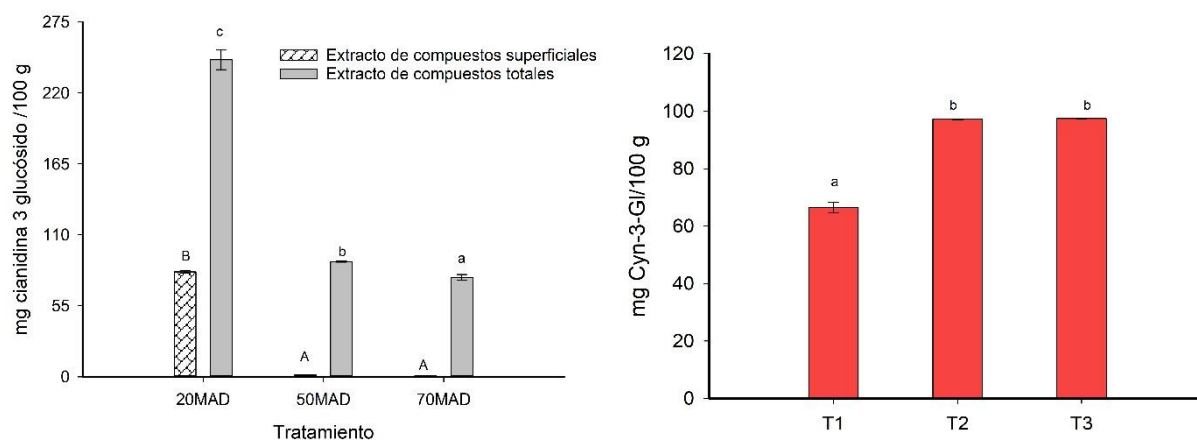


Figura 19. Comparación del contenido de cianidina 3-glucósido determinado por HPLC en ECS y ECT de encapsulado de *C. cainito* (A) y eficiencia de encapsulación (B) de diferentes tratamientos con MAD. T1= 20MAD; T2= 50MAD y T3= 70MAD.

7 CONCLUSIÓN

Se obtuvieron polvos de encapsulados de un extracto de antocianinas de *C. cainito* utilizando maltodextrina como material de pared a diferentes concentraciones (20 %, 50 % y 70 % p/v). El proceso de la liofilización fue efectiva para preservar las propiedades bioactivas del extracto de *C. cainito*.

Se encontró que la concentración de MAD influyó significativamente en la conservación y estabilidad de las propiedades bioactivas del extracto de *C. cainito*.

El extracto de *C. cainito* encapsulado con 50 % y 70 % de MAD exhibieron tanto las mejores propiedades bioactivas como la mayor eficiencia de encapsulación de cianidina 3-glucósido en comparación con el uso de 20 % de MAD.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, S. R., & Gil Garzón, M. A. (2020). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: Una revisión. *25 Mayo 2021*, 24(51). <https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Aldana, A. S., Rodríguez Sandoval*, E., & Ayala Aponte*, A. (2011). *Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos*. volumen 5(2), 11. <https://doi.org/10.25100/iyc.v5i2.2298>
- Alvarado de León, S. D. (2016). *Microencapsulación de un extracto acuoso de capulín (prunus serotina) empleando secado por aspersión y mezclas de almidón de maltodextrina y chinchayote* [Instituto Politécnico Nacional]. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/26241/ALVARADO%20DE%20LEON%2C%20SERGIO%20DANIEL.pdf?sequence=1>
- Álvarez Parrilla, E., González Aguilar, G. A., De la rosa, L. A., & Ayala Zavala, J. F. (2012). *Antioxidantes en alimentos y salud* (1era ed.). AM.
- Arizaleta, M., Bolívar, A., Pérez, M., Díaz, L., & Pares, J. (2014). Características físico-químicas y proporción de los componentes de la biomasa del fruto del caimito. *22 noviembre 2012*, 1, 11.
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante Secado por Aspersión y Evaluación de la Estabilidad de su Color y Capacidad Antioxidante. *Scielo*, 25(03). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Betelu Cuervo, S. (2021). *Efecto de la adición de maltodextrina resistente a zumos de naranja pasteurizados sobre los compuestos bioactivos y su bioaccesibilidad* [Universidad politécnica de valència]. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/169389/Betelu%20-%20Efecto%20de%20la%20adicion%20de%20maltodextrina%20resistente%20a%20zumos%20de%20naranja%20pasteurizados%20sobre%20....pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- C, O., A, M., R, K., R, J., & S, A. (2009). *Una guía de referencia y selección de árboles Chrysophyllum cainito*. 4.0, 6.
- Carranza Zúñiga, J. T. (2020). *Caracterización Morfológica y Físico Químico del Caimito (Chrysophyllum cainito L.), en la Estación Experimental Litoral Sur del iniap* [Universidad de guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/50333/1/Carranza%20Z%c3%ba%c3%b1ga%20Joselyn%20Tatiana.pdf>
- Castagnini, Juan M, Mercedes C, Scattolaro, Ornella M, Capodoglio, Daniel L, María F, Chacón, Carolina, Gerardo, & Jorge A. (2019). Microencapsulación de compuestos bioactivos. *Facultad de*

Ciencias de la Alimentación. Universidad Nacional de Entre Ríos. (Concordia, Entre Ríos, Argentina)., 9(9), 13.

Castromonte, M., Wacyk, J., & Valenzuela, C. (2020). Encapsulación de extractos antioxidantes desde sub-productos agroindustriales: Una revisión. *scielo*, 47(5). <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182020000500836>

Do Tan Khang. (17 mayo). Morphological Characteristics and Genetic Relations of the Star Apple Varieties (*Chrysophyllum cainito* L.). 2021, 20, 11. <https://doi.org/10.3923/ajps.2021.380.388>

Enríquez, M., Infantes, S., & Román, K. (2023, marzo 14). Impacto del uso de colorantes naturales en la industria alimentaria. *30 Abril 2023*, 3(1), 9.

Estupiñan Amaya, M. R. (2022). *Encapsulación de jugos de agraz en micropartículas de maltodextrina y goma arábiga mediante liofilización y secado por atomización* [Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/82200>

Figuerola Haro, J. N. (2020). *Microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (Hylocereus undatus)*. [Universidad técnica de ambato facultad de ciencia e ingeniería en alimentos y biotecnología]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30832/1/BQ%20218.pdf>

Flower, P., Theopold, K., Langley, R., & Robinson, W. (2022). *Química 2ed*.

Gómez Marquez, I. C., & Urrea Ciro, O. N. (2016). *Determinación de las propiedades bromatológicas, físicoquímicas, termofísicas y mecánicas del caimito (chrysophyllum cainito L) variedad morado cultivado en el departamento de córdova y antioquia* [Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/20b63068-6f86-41b2-9fba-c91c9ec4c31c/content>

Hamid, Thakur, N. S., & Thakur, A. (2020). *Microencapsulation of wild pomegranate flaved phenolics by lyophilization: Effect of maltodextrin concentration, structural morphology, functional properties, elemental composition and ingredient for development of functional beverage*. 133, 11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110077>

Ku Canul, C. Y. (2021). *Extracción, caracterización y estabilidad de las antocianinas de cáscara de Chrysophyllum cainito L., cultivado en yucatán* [Instituto tecnológico de mérida]. <http://51.143.95.221/bitstream/TecNM/3632/1/Cindialy%20Yuliet%20Ku%20Canul%20885600.pdf>

L. Diaz, Y., S. Torres, L., A. Serna, J., & I. Sotelo, L. (2017). Efecto de la Encapsulación en Secado por Atomización de Biocomponentes de Pitahaya Amarilla con Interés Funcional. *scielo*, 28(6), 12. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000600004>

Leiva-Espinoza, S. T., Hernández Díaz, E., & Mattos Calderon, L. L. (2021, febrero 13). Estabilidad de cepas nativas de *Trichoderma* conservadas mediante liofilización. *Agroproducción sustentable*, 5, 7.

Mejía Reyes, J. D., García Cabrera, K. E., Velázquez Ovalle, G., & Vázquez Ovando, A. (2021). Antioxidant capacity: Concepts, quantification methods and use for tropical fruits and derived products characterization. *13 octubre 2021*, 9(1), 25. <https://doi.org/ndustriales Volumen 9> (1<https://doi.org/10.23850/24220582.4023>

Moo-Huchin, V. M., Mota, I. E., León, R. E., Glory, L. C., Vázquez, E. O., Vargas y Vargas, M. de L., Ancona, D. B., & Duch, E. S. (2013). Determination of some physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. *11 diciembre 2013*, 152, 9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.0>

Moreno Villacís, : Lizbeth Estefanía. (2020). *Extracción y microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante y antiinflamatoria obtenidas a partir de fréjol rojo (Phaseolus vulgaris L.)* [Universidad técnica de ambato Facultad de ciencia e ingeniería en alimentos y biotecnología]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30838/1/BQ%20224.pdf>

Mosquera-Vivas, E. S., Ayala-Aponte, A. A., & Serna-Cock, L. (2019). Ultrasonido y Deshidratación Osmótica como Pretratamientos a la Liofilización de Melón (*Cucumis melo L.*). *scielo*, 30(3). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000300179>

Ochoa, C. E., & Guerrero, J. A. (2012). *Efecto del Almacenamiento a Diferentes Temperaturas sobre la Calidad de Tuna Roja (Opuntia ficus indica (L.) Miller)*. 23(1). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642012000100013>

Pastrana Bonilla, E., & Gutiérrez Guzmán, N. (2009). *Identificación y cuantificación de antocianinas en uvas muscadinas por cromatografía líquida y espectrometría de masas* (Especial, p. 09). [file:///C:/Users/admin/Downloads/Dialnet-IdentificacionYCuantificacionDeAntocianinasEnUvasM-6937002%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/admin/Downloads/Dialnet-IdentificacionYCuantificacionDeAntocianinasEnUvasM-6937002%20(1).pdf)

Porras Trujillo, F. J. (2012). *Microencapsulación de pulpa de carambola (Averrhoa carambola L.) mediante secado por liofilización*. [Universidad nacional agraria de la selva]. <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/320/FIA-239.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Quispe, I. R. (2024). *Evaluación de la microencapsulación de compuestos bioactivos extraídos de coronta de maíz morado (ZEA MAYS L.) en matrices de maltodextrina y goma de tara*. [José María Arguedas]. https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/853/Isa%c3%adas_Tesis_Bachiller_2024.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Reyna, X. F. de la R., García León, I., & Hernández Mendoza, J. (2022, diciembre 30). Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional*, México, 15.

Rouessac, F., & Rouessac, A. (s. f.). *Análisis químico: Métodos y técnicas instrumentales modernas* (5.^a ed.). McGraw-Hill Interamericana de España S.L., 2003.

Santos Cervera, M. T. (2023). *Optimización de la extracción asistida por ultrasonidos de antocianinas de la cáscara de Chrysophyllum cainito L. y evaluación de sus propiedades bioactivas*. Instituto tecnológico de mérida.

Tan, J., Han, Y., Han, B., Qi, X., Cai, X., Ge, S., & Xue, H. (2022). *Extraction and purification of anthocyanins: A review*. 8, 7. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100306>

Telenchana Pérez, E. V. (2019). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de antocianinas microencapsuladas a partir de cáscaras de berenjena (Solanum melongena)* [Universidad técnica de ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30541/1/BQ%20204.pdf>

Ulric, C. R. (2021). *Extraccion y caracterización de antocianinas mediante técnicas fisicoquímicas para su uso en preparados de alta cocina* [Universidad politécnica de catalunya]. https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/348388/CarlesRuizUlric_TrabajoFinalGrado.pdf?sequence=1

Zamora Vega, R., & Rodiles López, J. O. (2020). *Encapsulacion en alimentos* (Tecnoagro). <https://tecnoagro.com.mx/no.-145/encapsulacion-en-alimentos#:~:text=Con%20esta%20t%C3%A9cnica%20se%20han%20encapsulado%20colorantes%20como,0%20antioxidantes%20utilizando%20carragenina%20como%20material%20de%20pared.>

ANEXOS

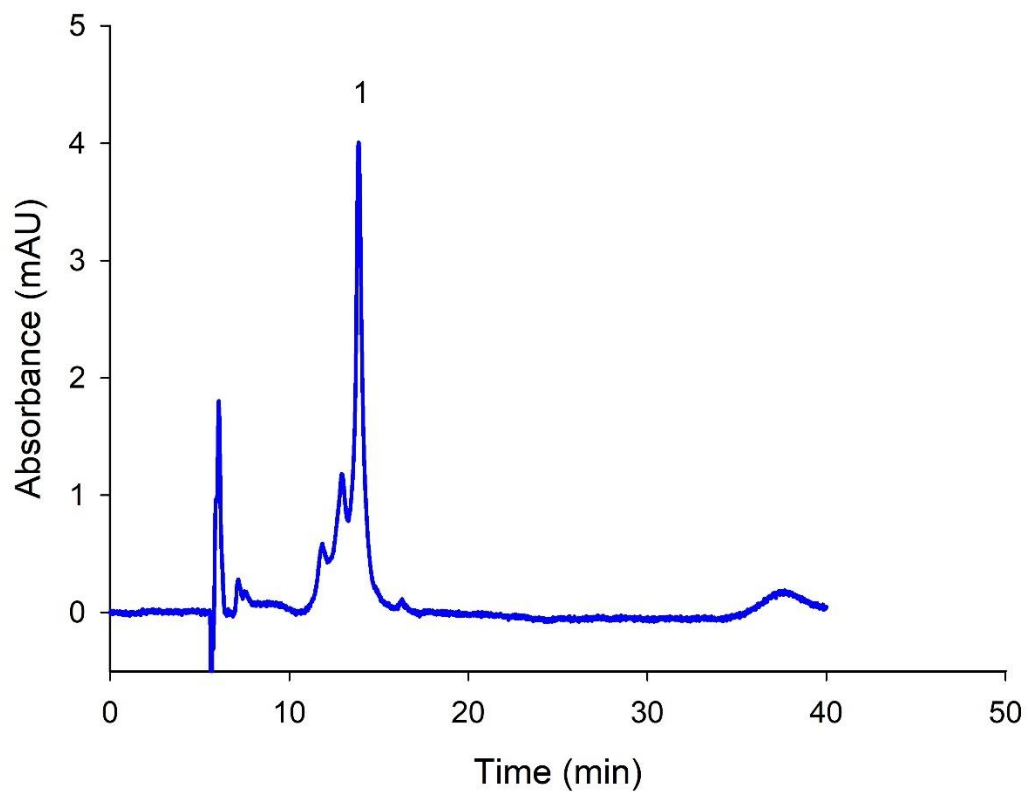


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción superficial de las microcápsulas para el tratamiento 1 (20 MAD).

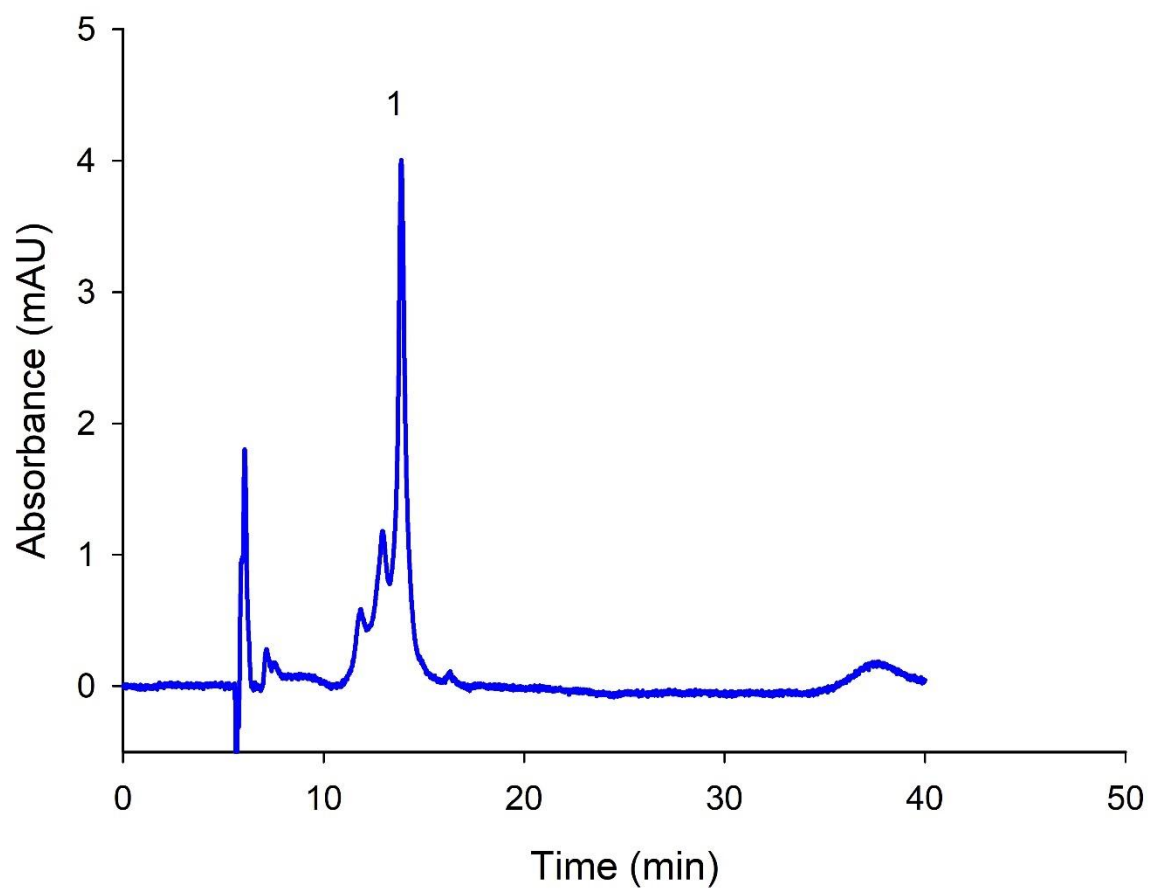


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción superficial de las microcápsulas para el tratamiento 2 (50 MAD).

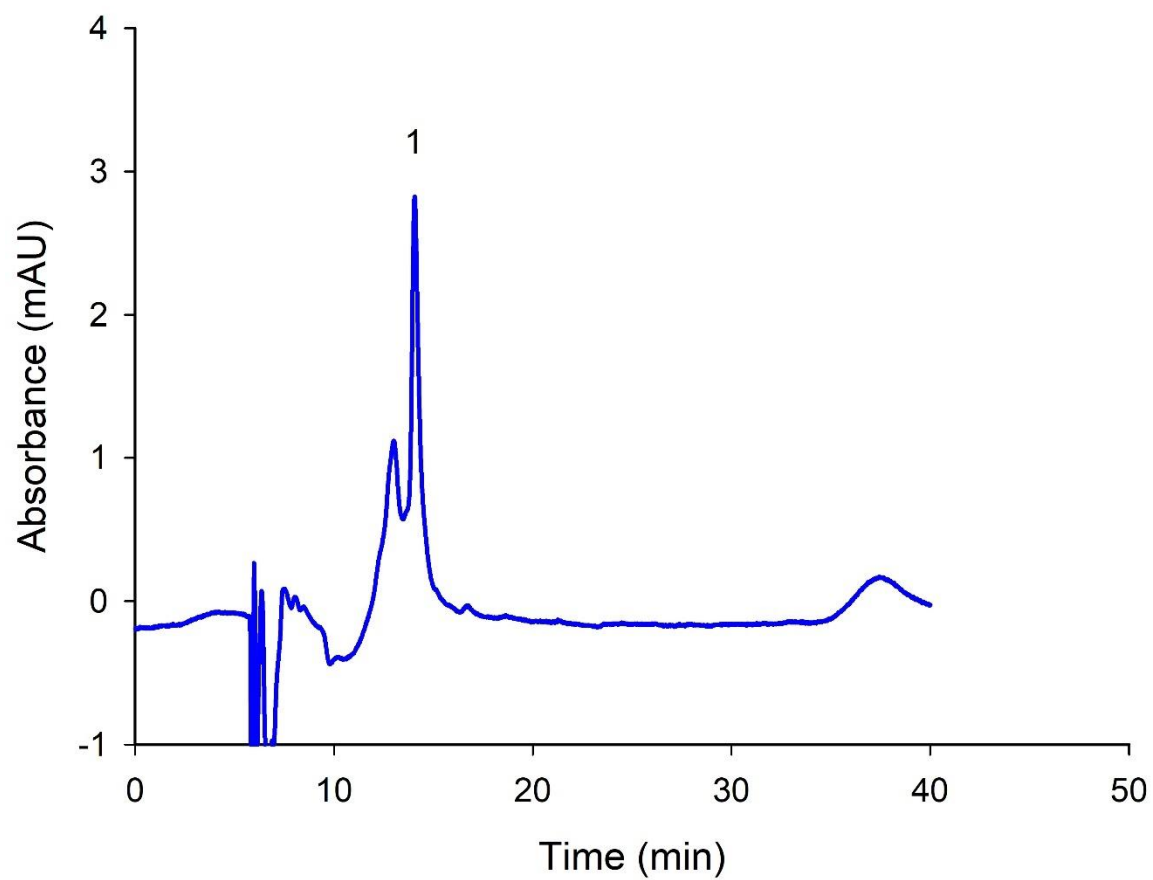


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción superficial de las microcápsulas para el tratamiento 3 (70 MAD).

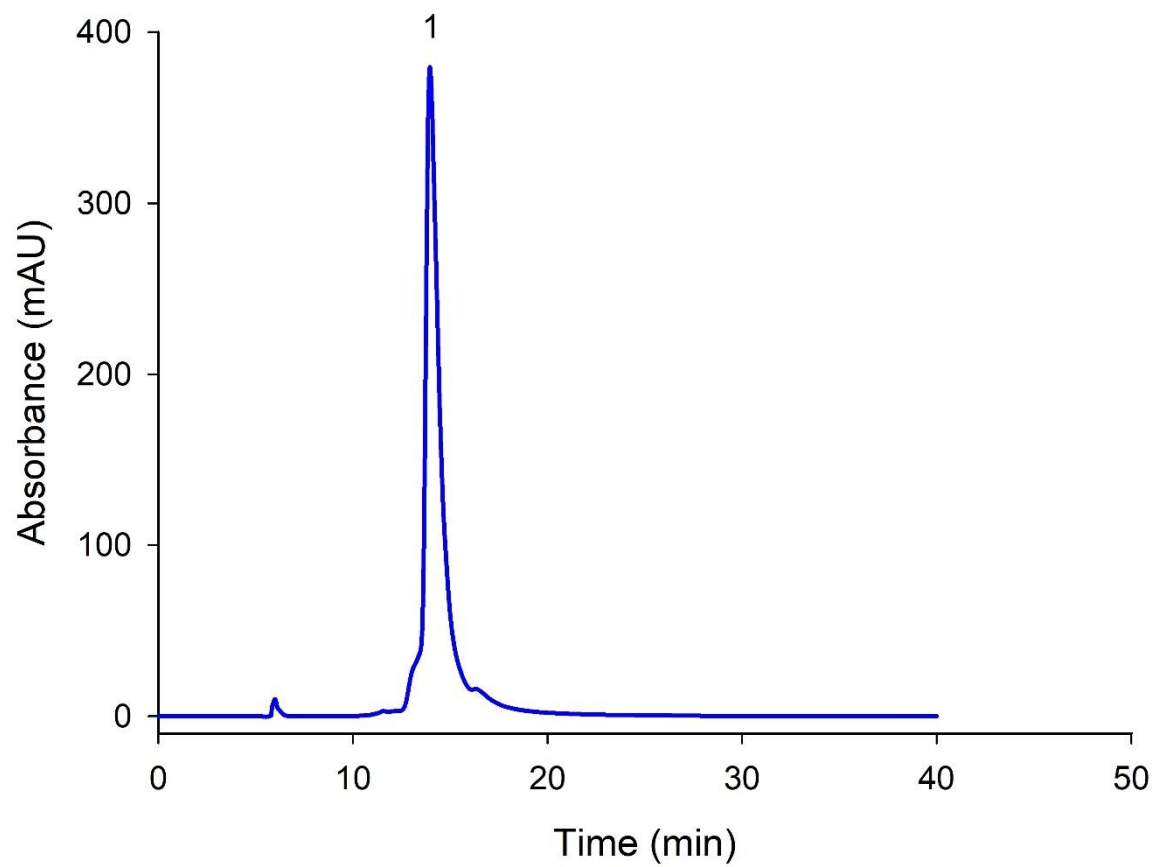


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción total de las microcápsulas para el tratamiento 1 (20 MAD).

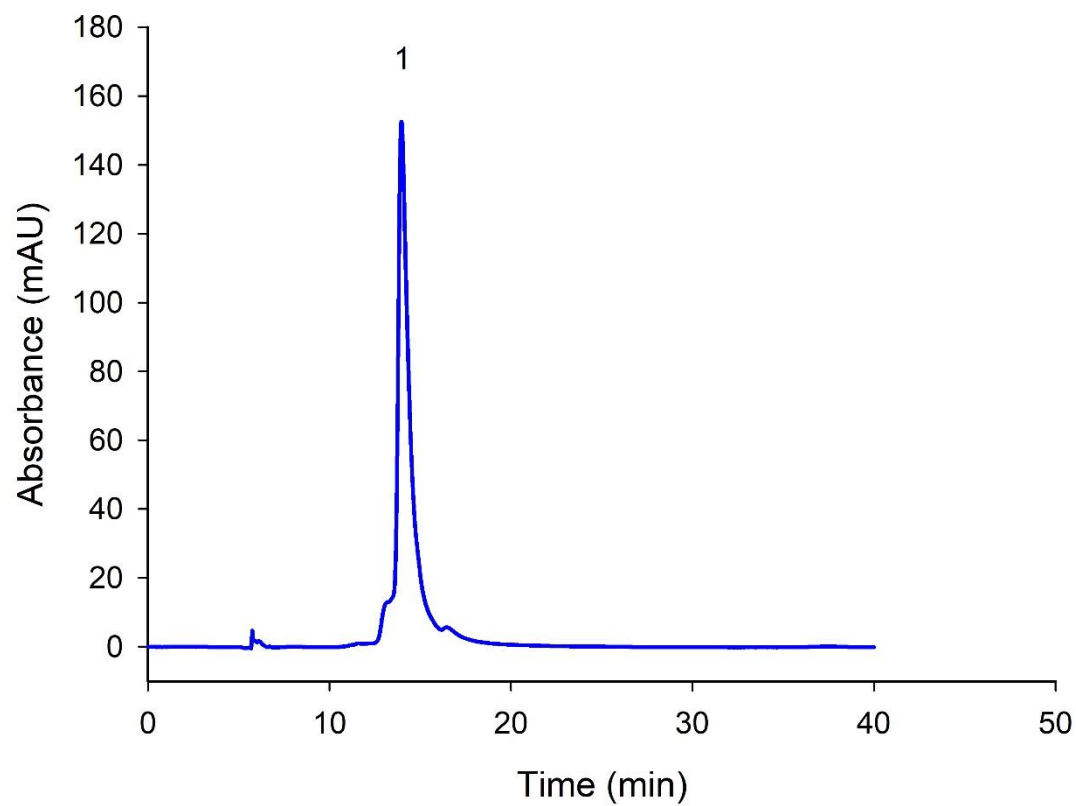


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción total de las microcápsulas para el tratamiento 2 (50 MAD).

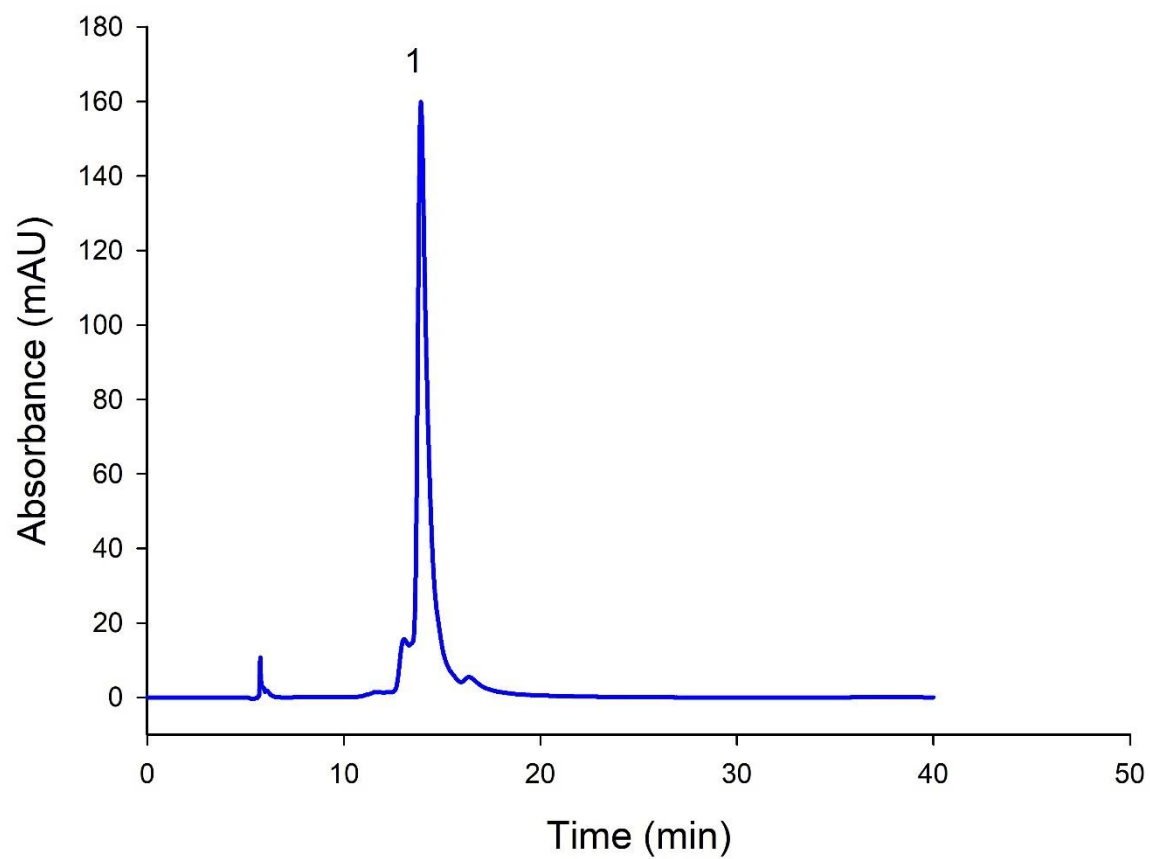


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en la fracción total de las microcápsulas para el tratamiento 3 (70 MAD).

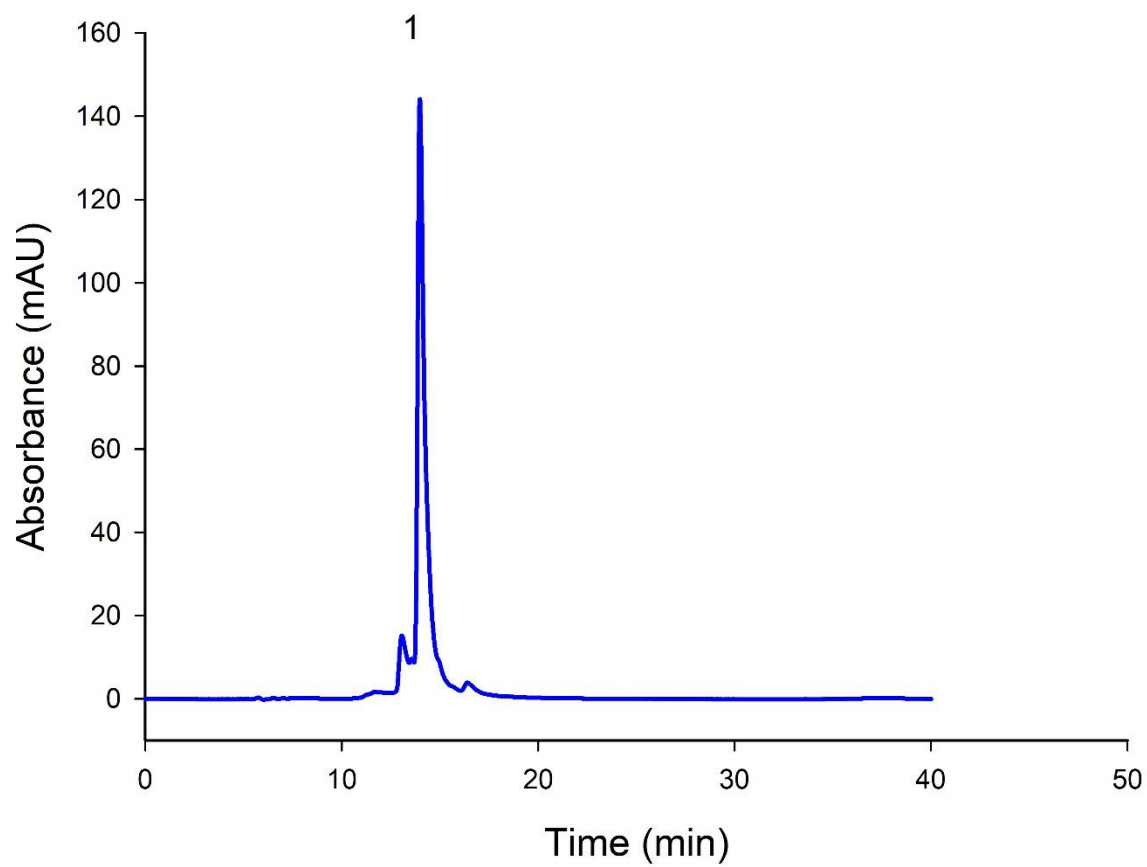


FIGURA. Contenido de cianidina 3 glucósido por HPLC en el extracto de antocianinas de *C. cainito* diluido 25 veces.