

**Optimización de extracción,  
microencapsulación y evaluación de la  
capacidad antioxidante de antocianinas de  
flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)  
mediante secado por aspersión**

**María Fernanda Sotomayor Carrasco  
David Andrés Vargas Arroyo**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**  
Noviembre, 2017

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Optimización de extracción,  
microencapsulación y evaluación de la  
capacidad antioxidante de antocianinas de  
flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)  
mediante secado por aspersión**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingenieros en Agroindustria Alimentaria en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**María Fernanda Sotomayor Carrasco  
David Andrés Vargas Arroyo**

**Zamorano, Honduras**  
Noviembre, 2017

# **Optimización de extracción, microencapsulación y evaluación de la capacidad antioxidante de antocianinas de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) mediante secado por aspersión**

**María Fernanda Sotomayor Carrasco  
David Andrés Vargas Arroyo**

**Resumen.** En este estudio se optimizó la extracción y microencapsulación de antocianinas de flor de Jamaica mediante secado por aspersión para la evaluación de su capacidad antioxidante. El estudio tuvo tres fases. En la fase preliminar, se evaluó el efecto de temperatura, pH, tiempo, relación sólido-líquido (%) y etanol (%) sobre la capacidad de extracción de antocianinas. Las variables significativas ( $p < 0.10$ ) fueron: tiempo, relación sólido-líquido (%) y etanol (%). En la fase uno se optimizó la extracción de antocianinas mediante un diseño factorial con tres factores: tiempo (0-8 horas), relación sólido-líquido (16.27-29.73%) y solvente agua: etanol (39.91-60.09%). El valor óptimo de concentración de antocianinas extraídas fue 3000 mg/L y se obtuvo con un tiempo de 8 horas, relación sólido-líquido de 29.72% y etanol (%) de 41.59%. En la fase dos se optimizó la microencapsulación de antocianinas mediante un diseño factorial con dos factores: almidón-alginato (%) (0.59-3.41%) y temperatura (153-198 °C). El valor óptimo se obtuvo con almidón-alginato (%) de 3.22% y temperatura de 170.74 °C, obteniendo una eficiencia de 96.02% y rendimiento de 60.80%. En la fase tres se evaluaron la capacidad antioxidante de las microcápsulas mediante la comparación del tiempo de inducción para antocianinas sin encapsular, antocianinas microencapsuladas y BHT. El mejor tratamiento fue BHT seguido por las antocianinas microencapsuladas.

**Palabras clave:** Flavonoides, maceración acidificada, pigmentos, tiempo de inducción.

**Abstract.** In the present study it was optimized the extraction and microencapsulation of Jamaica flower anthocyanins by spray-drying and the evaluation of the antioxidant capacity. The study had three phases. In the preliminary phase, it was evaluated the effect of temperature, pH, time, solid-liquid relationship (%) and ethanol (%) over the capacity of anthocyanins extraction. The significant variables ( $p < 0.10$ ) were: time, solid-liquid relationship and % ethanol. In phase one, it was optimized the anthocyanins extraction through a complete factorial design with three factors: time (0-8 hours), solid-liquid relationship (16.27-29.73%) and water: ethanol solvent (39.91-60.0%). The optimum value was 3000 mg/L anthocyanins concentration using 8 hours, 29.72% solid-liquid relationship and 41.59% ethanol percentage. In phase two, it was optimized the anthocyanins microencapsulation through a complete factorial design with two factors: % alginate-starch (0.59-3.41%) and temperature (153-198 °C). The optimum value was reached with % alginate-starch 3.22% and temperature 170.74 °C, having an efficiency of 96.02% and a throughput of 60.80%. In phase three it was evaluated the antioxidant capacity of the microcapsules by comparing the induction time for uncapsulated anthocyanins, microencapsulated anthocyanins and TBH. The best treatment was TBH followed by the microencapsulated anthocyanins.

**Key words:** Acidificated maceration, flavonoids, induction time, pigments.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos .....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>14</b>
<b>4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>30</b>
<b>5. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>31</b>
<b>6. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>32</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>36</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Niveles de las variables independientes para diseño fraccionado de extracción de antocianinas.....	4
2. Niveles codificados y reales del diseño fraccionado de extracción de antocianinas.....	5
3. Formulación de tratamientos de diseño fraccionado para la extracción de antocianinas.....	6
4. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo de extracción de antocianinas.....	8
5. Niveles reales y codificados del diseño factorial completo de extracción de antocianinas.....	9
6. Formulación de tratamientos de diseño factorial completo para la extracción de antocianinas.....	10
7. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo de microencapsulación de antocianina.....	12
8. Niveles reales y codificados del diseño factorial completo de microencapsulación de antocianinas.....	13
9. Concentración de antocianinas de flor de Jamaica extraídas para el diseño de 1/2 fracción.....	14
10. Concentración de antocianinas de flor de Jamaica para diseño fraccionado completo .....	16
11. Coeficientes de regresión para concentración de antocianinas en función de tiempo (h) ( $X_1$ ), relación sólido-líquido (%) ( $X_2$ ) y etanol (%) ( $X_3$ ).....	17
12. Eficiencia (%) y rendimiento (%) de microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión.....	22
13. Coeficientes de regresión para eficiencia de microencapsulación de antocianinas en función de almidón-alginato (%) ( $X_1$ ) y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )( $X_2$ )....	23
14. Coeficientes de regresión para rendimiento de microencapsulación de antocianinas en función de almidón-alginato (%) ( $X_1$ ) y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $X_2$ )...	25
15. Resultados análisis de estabilidad oxidativa.....	28

Figuras	Página
1. Variables significativas diseño de 1/2 fracción para extracción de antocianinas de flor de Jamaica.....	15
2. Efecto de etanol (%) y relación sólido líquido (%) con respecto a la concentración de antocianinas (mg/L).....	18
3. Efecto del tiempo (h) y etanol (%) con respecto a la concentración de antocianinas (mg/L).....	19
4. Efecto del tiempo (h) y relación sólido-líquido (%) con respecto a la concentración de antocianinas (mg/L).....	20
5. Función de utilidad con respecto a las variables tiempo (h), relación sólido-líquido (%) y etanol (%).....	21
6. Efecto de la temperatura (°C) y almidón-alginato (%) con respecto a la eficiencia (%) de microencapsulación.....	24
7. Efecto de temperatura (°C) y almidón-alginato (%) con respecto al rendimiento (%) de microencapsulación.....	26
8. Función de utilidad con respecto a las variables almidón-alginato (%) y temperatura (°C).....	27

Anexos	Página
1. Valor F calculado $P < 0.10$ para variable concentración de antocianinas.....	36
2. Valor F calculado $P < 0.10$ para variable eficiencia de microencapsulación.....	36
3. Valor F calculado $P < 0.10$ para variable rendimiento de microencapsulación.....	36
4. Sintaxis de SAS 9.4 de tiempo de inducción.....	36
5. Secador por aspersion para microencapsulación.....	37
6. Microcápsulas de antocianinas de flor de Jamaica.....	37

## 1. INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son glucósidos pertenecientes a la familia de los flavonoides compuestos por dos anillos aromáticos alfa y beta unidos por una cadena de tres carbonos (Vuarant 2013). Son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Aguilera *et al.* 2015). Las antocianinas son interesantes por dos razones, la primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos y la segunda por su implicación en la salud humana a través de diferentes vías (Aguilera *et al.* 2015).

El interés por los pigmentos antocianos en investigaciones científicas se han incrementado en los últimos años debido no solo al color que confieren a los productos que las contienen, sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo; estos efectos preventivos y terapéuticos, están principalmente asociados con sus propiedades antioxidantes (Vuarant 2013).

Una de las plantas con mayor contenido de antocianinas es la rosa de Jamaica también conocida como flor de Jamaica, karkade, roselle, sorrel, guinea sorrel, agrio de guinea, quetmia ácida y viña (*Hibiscus sabdariffa*), un arbusto anual nativo de África cultivado en las regiones tropicales y subtropicales de India, Tailandia, Senegal, Egipto, Estados Unidos, Panamá y México (Prieto *et al.* 2015; Carvajal *et al.* 2016). Actualmente se han realizado diversos estudios en la aplicación de extractos de flor de Jamaica en diferentes alimentos. Algunos ejemplos son, la aplicación en productos de panificación para enriquecerlos con fibra cruda, hierro y calcio; uso de cálices de Jamaica como antioxidantes en un producto cárnico “Kavurma” (Bozkurt y Belibağlı 2009). También se han dirigido algunos estudios en la aplicación de extractos de antocianina como antioxidantes en pizzas (Daramola y Asunni 2006). Por consiguiente, la aplicación de rosa de Jamaica en diversos alimentos se ha tornado una opción llamativa, debido a su gran aporte de compuestos bioactivos tales como, compuestos fenólicos y antocianinas (Cid y Guerrero 2012).

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua que presentan una baja estabilidad, debido a su alta sensibilidad a ciertos factores como, temperatura, variaciones en pH, oxígeno, luz entre otros factores, lo cual es uno de los principales problemas y limitaciones que poseen estos compuesto fenólicos para su aplicación en alimentos como potenciales compuestos antioxidantes en matrices lipídicas (Lopez 2015; Ohgami *et al.* 2005). El proceso de microencapsulación generalmente protege un líquido llamado material núcleo, el cual se obtiene mediante revestimiento del mismo dentro de una cápsula, como resultado se obtienen cápsulas cuyo tamaño aproximado varía entre 5 y 300 micrones de diámetro (Esquivel *et al.* 2015).

Algunas de sus aplicaciones están relacionadas con la inmovilización, protección, liberación controlada, estructuración y funcionalidad de compuestos específicos (Hermosilla 2012). Las aplicaciones técnicas de este método se han ido incrementando debido a su alta capacidad de ofrecer cierta protección y por ende brindar condiciones para que estos compuestos presenten mejor estabilidad. Muchas personas han trabajado con estos compuestos mediante una gran diversidad de técnicas de microencapsulación para brindarles mayor estabilidad a lo largo del tiempo, alargando así su vida útil (Garzón 2008).

El secado por aspersion es una operación unitaria mediante la cual un producto líquido es atomizado en una corriente de gas caliente para obtener polvo de manera instantánea (Villena *et al.* 2009). Las etapas de secado por aspersion son la atomización mediante presión o centrifugación, donde lo que se busca es crear la máxima transferencia de calor entre el aire seco y el líquido; la etapa de contacto gota-aire caliente se da durante la atomización e inicia el secado del líquido, en seguida ocurre la etapa de evaporación de agua de manera instantánea; finalmente se da la separación del producto seco y aire húmedo, en la que mediante un ciclón ubicado en la cámara de secado, se reducen las pérdidas del producto a la atmósfera (Esquivel *et al.* 2015). Esta metodología tiene una técnica con buenas perspectivas de aplicación en la industria de alimentos debido a su bajo costo y disponibilidad de equipo (Gharsallaoui *et al.* 2007).

La presente investigación estará enfocada en la optimización del proceso de extracción de antocianinas de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y la microencapsulación mediante secado por aspersion con el uso de almidón-alginato, utilizando un análisis de superficie de respuesta, para posteriormente evaluar su estabilidad oxidativa.

Para el estudio se determinaron los siguientes objetivos:

- Identificar el punto óptimo para obtener la mayor concentración de antocianinas de la flor de Jamaica en el proceso de extracción.
- Identificar el punto óptimo para obtener la mayor eficiencia y rendimiento de microencapsulación de antocianinas presentes en la flor de Jamaica.
- Evaluar la capacidad antioxidante de las antocianinas sin encapsular y los microencapsulados.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### **Fase preliminar y fase I. Optimización de la concentración de antocianinas de flor de Jamaica en el proceso de extracción.**

**Preparación de la muestra.** Para la obtención de la harina de flor de Jamaica se pesaron 225 g de cálices secos y se colocaron en el molino de martillo marca Thomas utilizando un tamaño de malla de 2 mm. A continuación se colocó la harina obtenida en un molino de ciclón marca CT 193 Cyclotec con tamaño de malla de 0.5 mm para obtener una harina con menor tamaño de partícula. Finalmente se colocó la harina en bolsas plásticas (Flores y Chicaiza 2016).

**Extracción de antocianinas.** Se preparó el solvente (agua: etanol) a las distintas proporciones considerando la relación sólido-líquido (%) y etanol (%) de cada uno de los tratamientos. A continuación se ajustó el pH con un potenciómetro de acuerdo a lo indicado por el diseño experimental utilizando HCL 1N y NaOH 1N. Se pesaron 3 g de harina de flor de Jamaica en un tubo plástico envuelto totalmente en papel aluminio y se añadió el solvente ya preparado y acidificado. Luego se agitó cada tratamiento utilizando un vórtex por un minuto y se dejó en reposo dentro de la incubadora a las diferentes horas y temperaturas establecidas por el diseño. Finalmente las muestras fueron centrifugadas a 4000 rpm durante 30 minutos y se recolectó el sobrenadante (Flores y Chicaiza 2016).

**Cuantificación de antocianinas.** Para obtener la concentración de las antocianinas se utilizó el método de pH diferencial. Se colocó en un vaso de precipitación envuelto en papel aluminio 0.5 ml de cada muestra con 24.5 ml de agua destilada (dilución 50X), se mezcló hasta obtener una solución homogénea. Luego, se extrajo 0.5 ml de la dilución anterior y se añadió a un vaso de precipitación con 4.5 ml de buffer pH 1 (0.025 M Cloruro de Potasio) y a otro vaso de precipitación con 4.5 ml de buffer pH 4.5 (0.4 M Acetato de sodio), los cuales fueron cubiertos totalmente con papel aluminio (dilución 10X). Se tapó la muestra y se dejó reposar por 45 minutos en oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia de los extractos utilizando un espectrofotómetro de UV-Visible. Se calibró el equipo usando como blanco agua destilada y se hizo la lectura a 520 nm y 700 nm a cada uno de los vasos de precipitación con las distintas soluciones buffer dentro de una absorbancia menor a 0.8 UA, esto debido a que se debe cumplir con la ley de Beer Lambert (Flores y Chicaiza 2016).

Para el cálculo de la concentración de antocianinas se utilizó la fórmula de pH diferencial considerando a cianidina-3-glucósido como la antocianina presente dentro de la flor de Jamaica.

$$\text{Concentración } \left( \frac{\text{mg}}{\text{lt}} \right) = \left( \frac{\text{Absorbancia ajustada}}{\text{Coeficiente de extinción molar}} \right) * PM * 1000 * FD \quad [1]$$

$$\text{Absorbancia Ajustada} = (\text{Abs520} - \text{Abs700})_{\text{pH1.0}} - (\text{Abs520} - \text{Abs700})_{\text{pH4.5}} \quad [2]$$

Donde:

PM (peso molecular) = 457.6 gr/mol de cianidina-3-glucósido.

Coeficiente de extinción molar = 29600 de cianidina-3-glucósido.

1000 es el factor de conversión de molar a ppm (mg/L).FD (factor de dilución) = 50X \* 10X = 500X.

**Diseño experimental.** Se evaluó el efecto de la temperatura (°C), pH, tiempo (h), relación sólido-líquido (%) y etanol (%) sobre la capacidad de extracción de antocianinas de la flor de Jamaica mediante un experimento factorial usando la metodología de superficie de respuesta con una probabilidad de significancia de 10%. Se empleó un diseño factorial fraccionado de  $2^{5-1}$  (16 ensayos) + cuatro puntos centrales con 20 ensayos iniciales para el análisis de las cinco variables. Para este diseño de  $\frac{1}{2}$  fracción, las cuatro primeras columnas son formadas como un diseño  $2^4$  y la quinta columna se obtuvo del resultado de la multiplicación de las cuatro primeras columnas ( $5 = 1 \times 2 \times 3 \times 4$ ) (Rodríguez 2015). La amplitud en el rango de las variables se determinó en base a literatura consultada (Arazola *et al.* 2014); (Heras *et al.* 2013); (Salazar *et al.* 2009) (Flores y Chicaiza 2016). A continuación se muestra la distribución de los niveles codificados (-1, +1) y los puntos centrales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Niveles de las variables independientes para diseño fraccionado de extracción de antocianinas.

Variables	Niveles		
	-1	0	1
Temperatura (°C) (X <sub>1</sub> )	31.00	35.00	39.00
pH (X <sub>2</sub> )	1.50	2.37	3.24
Etanol (%) (X <sub>3</sub> )	44.00	50.00	56.00
Tiempo (h) (X <sub>4</sub> )	1.50	4.00	6.50
Relación sólido-líquido (%) (X <sub>5</sub> )	19.00	23.00	27.00

En el cuadro 2 se describen los valores reales y codificados del diseño experimental completo con cinco variables y en el cuadro 3 las proporciones por tratamiento.

Cuadro 2. Niveles codificados y reales del diseño fraccionado de extracción de antocianinas.

Tratamientos	Niveles codificados					Niveles reales				
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	x <sub>4</sub>	x <sub>5</sub>
1	-1.00	-1.00	-1.00	-1.00	1.00	31.00	1.50	44.00	1.50	27.00
2	1.00	-1.00	-1.00	-1.00	-1.00	39.00	1.50	44.00	1.50	19.00
3	-1.00	1.00	-1.00	-1.00	-1.00	31.00	3.24	44.00	1.50	19.00
4	1.00	1.00	-1.00	-1.00	1.00	39.00	3.24	44.00	1.50	27.00
5	-1.00	-1.00	1.00	-1.00	-1.00	31.00	1.50	56.00	1.50	19.00
6	1.00	-1.00	1.00	-1.00	1.00	39.00	1.50	56.00	1.50	27.00
7	-1.00	1.00	1.00	-1.00	1.00	31.00	3.24	56.00	1.50	27.00
8	1.00	1.00	1.00	-1.00	-1.00	39.00	3.24	56.00	1.50	19.00
9	-1.00	-1.00	-1.00	1.00	-1.00	31.00	1.50	44.00	6.50	19.00
10	1.00	-1.00	-1.00	1.00	1.00	39.00	1.50	44.00	6.50	27.00
11	-1.00	1.00	-1.00	1.00	1.00	31.00	3.24	44.00	6.50	27.00
12	1.00	1.00	-1.00	1.00	-1.00	39.00	3.24	44.00	6.50	19.00
13	-1.00	-1.00	1.00	1.00	1.00	31.00	1.50	56.00	6.50	27.00
14	1.00	-1.00	1.00	1.00	-1.00	39.00	1.50	56.00	6.50	19.00
15	-1.00	1.00	1.00	1.00	-1.00	31.00	3.24	56.00	6.50	19.00
16	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	39.00	3.24	56.00	6.50	27.00
17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00
18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00
19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00
20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00

X<sub>1</sub> y x<sub>1</sub>: temperatura (°C).

X<sub>2</sub> y x<sub>2</sub>: pH.

X<sub>3</sub> y x<sub>3</sub>: etanol (%).

X<sub>4</sub> y x<sub>4</sub>: tiempo (h).

X<sub>5</sub> y x<sub>5</sub>: relación sólido-líquido (%).

Cuadro 3. Formulación de tratamientos de diseño fraccionado para la extracción de antocianinas.

Tratamientos	Etanol (%)		Tiempo (h)	Temperatura (°C)	pH	Relación sólido-líquido (%)	
	Agua (ml)	Etanol (ml)				Harina Flor (g)	Solución (ml)
1	4.54	3.57	1.50	31.00	1.50	3.00	8.11
2	7.16	5.62	1.50	39.00	1.50	3.00	12.78
3	7.16	5.62	1.50	31.00	3.24	3.00	12.78
4	4.54	3.57	1.50	39.00	3.24	3.00	8.11
5	5.62	7.16	1.50	31.00	1.50	3.00	12.78
6	3.57	4.54	1.50	39.00	1.50	3.00	8.11
7	3.57	4.54	1.50	31.00	3.24	3.00	8.11
8	5.62	7.16	1.50	39.00	3.24	3.00	12.78
9	7.16	5.62	6.50	31.00	1.50	3.00	12.78
10	4.54	3.57	6.50	39.00	1.50	3.00	8.11
11	4.54	3.57	6.50	31.00	3.24	3.00	8.11
12	7.16	5.62	6.50	39.00	3.24	3.00	12.78
13	3.57	4.54	6.50	31.00	1.50	3.00	8.11
14	5.62	7.16	6.50	39.00	1.50	3.00	12.78
15	5.62	7.16	6.50	31.00	3.24	3.00	12.78
16	3.57	4.54	6.50	39.00	3.24	3.00	8.11
17	5.00	5.00	4.00	35.00	2.37	3.00	10.00
18	5.00	5.00	4.00	35.00	2.37	3.00	10.00
19	5.00	5.00	4.00	35.00	2.37	3.00	10.00
20	5.00	5.00	4.00	35.00	2.37	3.00	10.00

Después de identificar las variables que son significativas bajo una probabilidad del 10%, se realizó un experimento factorial completo  $2^3$  estadísticamente delineado en la metodología de superficie de respuesta con un diseño de composición centro rotacional de 2do orden (DCCR) (Rodrigues 2015). Para la codificación de los parámetros del proceso se usó la ecuación 3.

$$x_i = \left( X_i - \frac{Z}{\Delta X_i} \right) \quad [3]$$

Dónde:

$x_i$  = Valor codificado de la  $X_i$ .

$X_i$  = Valor real de la variable.

$Z$  = Valor real de la variable en el punto central.

$\Delta X_i$  = Valor del intervalo de la variable  $x_i$ .

Este modelo presenta dos niveles axiales, codificados como  $+\alpha$  y  $-\alpha$ . El valor alfa depende del número factorial ( $F=2^k$ ) del diseño y del número de variables independientes ( $K=3$ ), en el caso de este experimento se define por la ecuación 4.

$$\pm\alpha = (F)^{\frac{1}{4}} = (2^k)^{\frac{1}{4}} = (2^3)^{\frac{1}{4}} = 1.682 \quad [4]$$

El número de tratamientos del experimento se basó en un diseño factorial completo, ecuación 5.

$$n = 2^k + 2k + m \quad [5]$$

Donde:

$2^k$ = número de puntos factoriales.

$2K$ = número de puntos axiales.

$m$ = número de repeticiones del punto central.

Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente forma:

$2^k = 2^3 = 8$  puntos factoriales.

$2K = 2 \times 3 = 6$  puntos axiales.

$m = 6$  repeticiones del punto central.

Total = 20 unidades experimentales.

El análisis de los resultados se describe como un sistema en que se juntan tres variables independientes y una variable dependiente, donde la respuesta está de acuerdo a los niveles en los que se combinan, como se observa en la ecuación 6.

$$Y = F(X_1, X_2, \dots, X_k) \quad [6]$$

Además se realizó un análisis de regresión para describir un polinomio de segundo orden con las variables independientes por cada variable dependiente. La expresión general utilizada para poder describir el comportamiento de la variable dependiente está descrita en la siguiente ecuación 7.

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \epsilon) \quad [7]$$

Dónde:

$Y_i$  = Función respuesta.

$X_1, X_2, X_3$  = Valores de variables independientes.

$\beta_0$  = Coeficiente del intercepto del eje Y.

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$  = Coeficientes lineales encontrados por el método de mínimo cuadrados.

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$  = Coeficientes de variables cuadráticas.

$\beta_{12}$  = Coeficiente de interacción entre variables independientes.

$\epsilon$  = Error del experimento.

La significancia del modelo propuesto se definirá como predictivo o tendencioso, evaluado por el análisis de los residuos y explicada por la comparación de la proporción de la varianza ( $R^2$ ), la significancia de la “Falta de Ajuste” y la comparación del Valor F calculado contra el Valor F tabular para una significancia del 10% (Rodrigues 2015).

Los niveles de las variables independientes seleccionadas por su efecto en la etapa preliminar fueron descritas como la combinación de todos los niveles, axiales y puntos centrales a las diferentes proporciones establecidas en esta primera etapa (Cuadro 4).

Cuadro 4. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo de extracción de antocianinas.

Variables	Niveles				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Etanol (%) ( $X_1$ )	39.91	44.00	50.00	56.00	60.09
Relación sólido-líquido (%) ( $X_2$ )	16.27	19.00	23.00	27.00	29.73
Tiempo (h) ( $X_3$ )	0.00	1.62	4.00	6.38	8.00

En el cuadro 5 se describen los valores reales y codificados del diseño experimental completo con tres variables y en el cuadro 6 las proporciones por tratamiento.

Cuadro 5. Niveles reales y codificados del diseño factorial completo de extracción de antocianinas.

Tratamientos	Niveles Codificados			Niveles Reales		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Etanol (%)	Relación sólido-líquido (%)	Tiempo (h)
1	-1.00	-1.00	-1.00	44.00	19.00	1.62
2	1.00	-1.00	-1.00	56.00	19.00	1.62
3	-1.00	1.00	-1.00	44.00	27.00	1.62
4	1.00	1.00	-1.00	56.00	27.00	1.62
5	-1.00	-1.00	1.00	44.00	19.00	6.38
6	1.00	-1.00	1.00	56.00	19.00	6.38
7	-1.00	1.00	1.00	44.00	27.00	6.38
8	1.00	1.00	1.00	56.00	27.00	6.38
9	-1.68	0.00	0.00	39.91	23.00	4.00
10	1.68	0.00	0.00	60.09	23.00	4.00
11	0.00	-1.68	0.00	50.00	16.27	4.00
12	0.00	1.68	0.00	50.00	29.73	4.00
13	0.00	0.00	-1.68	50.00	23.00	0.00
14	0.00	0.00	1.68	50.00	23.00	8.00
15 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00
16 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00
17 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00
18 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00
19 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00
20 ©	0.00	0.00	0.00	50.00	23.00	4.00

© Puntos centrales.

X<sub>1</sub>: etanol (%).

X<sub>2</sub>: relación sólido-líquido (%).

X<sub>3</sub>: tiempo (h).

Cuadro 6. Formulación de tratamientos de diseño factorial completo para la extracción de antocianinas.

Tratamientos	Etanol (%)		Tiempo (h)	Relación sólido-líquido (%)	
	Agua (ml)	Etanol (ml)		Harina Flor (g)	Solución (ml)
1	7.16	5.63	1.60	3.00	12.79
2	5.63	7.16	1.60	3.00	12.79
3	4.54	3.57	1.60	3.00	8.11
4	3.57	4.54	1.60	3.00	8.11
5	7.16	5.63	6.40	3.00	12.79
6	5.63	7.16	6.40	3.00	12.79
7	4.54	3.57	6.40	3.00	8.11
8	3.57	4.54	6.40	3.00	8.11
9	6.04	4.01	4.00	3.00	10.04
10	4.01	6.04	4.00	3.00	10.04
11	7.72	7.72	4.00	3.00	15.44
12	3.55	3.55	4.00	3.00	7.09
13	5.02	5.02	0.00	3.00	10.04
14	5.02	5.02	8.00	3.00	10.04
15 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04
16 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04
17 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04
18 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04
19 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04
20 ©	5.02	5.02	4.00	3.00	10.04

© Puntos centrales.

## Fase II. Optimización de la microencapsulación de antocianinas de flor de Jamaica mediante método de secado por aspersion

**Preparación de la muestra.** Se prepararon las soluciones (agua: almidón-alginato (%)), con una relación almidón-alginato de 1:1. El alginato utilizado fue de grado alimenticio y el almidón fue de Tapioca (*Manihot esculenta*). Se pesaron las distintas proporciones de almidón-alginato (%) para cada tratamiento y se añadieron a 200 ml de agua destilada. Se mezcló los tratamientos utilizando un agitador magnético durante 20 minutos o hasta obtener una completa disolución de las partículas existentes y simultáneamente se aplicó calor (40°C). A partir del tratamiento óptimo de extracción de antocianinas, descrito en la fase 1, se tomó 10 ml y se añadió a cada tratamiento, se agitó de manera prolongada hasta obtener una mezcla homogénea (Da Silva *et al.* 2016; Gülay Özkan 2014).

**Microencapsulación de antocianinas.** La muestra se microencapsuló en un secador por aspersion a escala de laboratorio Labplant SD-Basic, UK. El extracto ingresó por la manguera hacia el atomizador mediante el funcionamiento de una bomba peristáltica,

posteriormente hacia la cámara primaria, donde las partículas más pesadas y el desecho quedaron suspendidas, mientras que las que cumplieron con el peso y tamaño adecuado se almacenaron en la cámara de salida. La presión de aire de funcionamiento fue de tres atmósferas, el caudal de alimentación fue 26.75 ml por minuto y la temperatura varió en cada tratamiento (Da Silva *et al.* 2016).

**Evaluación de rendimiento.** Se evaluó el rendimiento del microencapsulado obtenido mediante la relación del peso de las microcápsulas obtenidas y el peso del material encapsulantes que fue utilizado mediante la ecuación 8 (Sanchez 2016).

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de microcápsulas obtenidas}}{\text{Peso de material encapsulante}} \times 100 \quad [8]$$

**Evaluación de eficiencia.** Se evaluó la eficiencia del microencapsulado obtenido mediante la relación de concentración de antocianinas agregadas y la concentración de antocianinas encapsulada mediante la ecuación 9 (Vera *et al.* 2013).

$$\text{Eficiencia (\%)} = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad [9]$$

Donde:

N = concentración de antocianinas encapsuladas.

No = concentración de antocianinas agregadas.

**Diseño experimental.** Este modelo presenta dos niveles axiales, codificados como +  $\alpha$  y -  $\alpha$ . El valor alfa depende del número factorial ( $F=2^k$ ) del diseño y del número de variables independientes ( $K=2$ ), en el caso de este experimento se define por la ecuación 10 (Rodrigues 2015).

$$\pm\alpha = (F)^{\frac{1}{4}} = (2^k)^{\frac{1}{4}} = (2^2)^{\frac{1}{4}} = 1.414 \quad [10]$$

El número de tratamientos del experimento se basó en un diseño factorial completo, ecuación 11.

$$n = 2^k + 2k + m \quad [11]$$

Dónde:

$2^k$  = número de puntos factoriales.

$2K$  = número de puntos axiales.

$m$  = número de repeticiones del punto central.

Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente forma:

$2^k = 2^2 = 4$  puntos factoriales.

$2K = 2 \times 2 = 4$  puntos axiales.

$m = 3$  repeticiones del punto central.

Total = 11 unidades experimentales.

Además, se realizó un análisis de regresión para describir un polinomio de segundo orden con las variables independientes por cada variable dependiente. La expresión general utilizada para poder describir el comportamiento de la variable dependiente está descrita en la siguiente ecuación 12.

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \epsilon) \quad [12]$$

Dónde:

$Y_i$  = Función respuesta.

$X_1, X_2$  = Valores de variables independientes.

$\beta_0$  = Coeficiente del intercepto del eje Y.

$\beta_1, \beta_2$  = Coeficientes lineales encontrados por el método de mínimo cuadrados.

$\beta_{11}, \beta_{22}$  = Coeficientes de variables cuadráticas.

$\beta_{12}$  = Coeficiente de interacción entre variables independientes.

$\epsilon$  = Error del experimento.

La significancia del modelo propuesto se definirá como predictivo o tendencioso evaluado por el análisis de los residuos explicada por la comparación de la proporción de la varianza ( $R^2$ ), la significancia de la “Falta de Ajuste” y la comparación del Valor F calculado contra el Valor F tabular para una significancia del 10% (Rodrigues 2015).

Los niveles de las variables independientes fueron descritas como la combinación de todos los niveles, axiales y puntos centrales a las diferentes proporciones establecidas (Cuadro 7) (Da Silva *et al.* 2016; Arrazola *et al.* 2014).

Cuadro 7. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo de microencapsulación de antocianinas.

Variables	Niveles				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Almidón-alginato (%) ( $X_1$ )	0.59	1.00	2.00	3.00	3.41
Temperatura (°C) ( $X_2$ )	153.44	160.00	176.00	192.00	198.56

En el cuadro 8 se describen los valores reales y codificados del diseño experimental completo con dos variables.

Cuadro 8. Niveles reales y codificados del diseño factorial completo de microencapsulación de antocianinas.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles reales	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Almidón-alginato (%)	Temperatura (°C)
1	-1.00	-1.00	1.00	176.00
2	1.00	-1.00	3.00	176.00
3	-1.00	1.00	1.00	192.00
4	1.00	1.00	3.00	192.00
5	-1.41	0.00	0.59	176.00
6	1.41	0.00	3.41	176.00
7	0.00	-1.41	2.00	153.44
8	0.00	1.41	2.00	198.56
9 ©	0.00	0.00	2.00	176.00
10 ©	0.00	0.00	2.00	176.00
11 ©	0.00	0.00	2.00	176.00

© Puntos centrales.

### Fase 3. Evaluación de la capacidad oxidativa de antocianinas de flor de Jamaica.

**Estabilidad oxidativa en aceite.** Se realizó un análisis de período de inducción para la microcápsula optimizada de la etapa dos mediante el uso del equipo Rancimat. Se realizó cuatro tratamientos. Se pesó para cada uno 3 gramos de aceite de soya en tubos de vidrio, se mezcló con 0.5 gramos de BHT, antocianinas encapsuladas, antocianinas sin encapsular y además una muestra control solo con aceite. A continuación se agitó las muestras por unos 30 segundos y se procedió a realizar la prueba. Esta evaluación induce la oxidación de las muestras al trabajar con temperaturas de 120 °C y una velocidad de aire de 20 L/h. Con 60 ml de agua destilada y sensores se midió la conductividad eléctrica debido a la formación de ácidos volátiles dentro de la muestra. Se realizaron muestras por triplicado para cada uno de los tratamientos (Feurer 2016).

**Diseño experimental.** Se realizó una separación de medias DUNCAN con un análisis de varianza (ANDEVA) con una probabilidad del 5% mediante el uso del programa SAS 9.4 para la evaluación de la capacidad antioxidante.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Fase I. Optimización de la extracción de antocianinas de la flor de Jamaica.

Para encontrar las variables significativas de la extracción de antocianinas de flor de Jamaica se realizó un diseño de 1/2 fracción bajo el análisis de superficie de respuesta (Cuadro 9). Se consideró las variables temperatura (31-39 °C), pH (1.50-3.24), etanol (44-56%), tiempo (1.5-6.5 h) y relación sólido-líquido (19-27%). El extracto de antocianinas de flor de Jamaica se expresó en mg/L.

Cuadro 9. Concentración de antocianinas extraídas de flor de Jamaica para el diseño de 1/2 fracción.

Tratamientos	Temperatura (°C)	pH	Etanol (%)	Tiempo (h)	Relación sólido-líquido (%)	Concentración (mg/L)
1	31.00	1.50	44.00	1.50	27.00	843
2	39.00	1.50	44.00	1.50	19.00	634
3	31.00	3.24	44.00	1.50	19.00	1013
4	39.00	3.24	44.00	1.50	27.00	1121
5	31.00	1.50	56.00	1.50	19.00	943
6	39.00	1.50	56.00	1.50	27.00	1515
7	31.00	3.24	56.00	1.50	27.00	3548
8	39.00	3.24	56.00	1.50	19.00	1646
9	31.00	1.50	44.00	6.50	19.00	1731
10	39.00	1.50	44.00	6.50	27.00	3440
11	31.00	3.24	44.00	6.50	27.00	2504
12	39.00	3.24	44.00	6.50	19.00	1693
13	31.00	1.50	56.00	6.50	27.00	3486
14	39.00	1.50	56.00	6.50	19.00	3007
15	31.00	3.24	56.00	6.50	19.00	3656
16	39.00	3.24	56.00	6.50	27.00	3084
17	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00	3780
18	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00	3138
19	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00	2443
20	35.00	2.37	50.00	4.00	23.00	3308

Seguidamente se evaluó la significancia de las variables con una  $p < 0.10$  y se escogió las variables significativas para la siguiente fase del estudio.

Las variables significativas en la fase preliminar fueron: tiempo (h) ( $p = 0.014$ ), etanol (%) ( $p = 0.037$ ) y relación sólido-líquido (%) ( $p = 0.099$ ) (Figura 1). En varias investigaciones de extracción de antocianinas se ha observado que las cinco variables estudiadas tienen un efecto significativo durante la extracción de antocianinas (Aguilera *et al.* 2015). Debido a los rangos establecidos dentro del estudio se observó que las variables independientes, tiempo (h), etanol (%) y relación sólido-líquido (%), fueron mayormente significativas ya que para establecer los puntos centrales se usó literatura y para las variables temperatura y pH existe mayor coincidencia en datos obtenidos como óptimos en otros estudios dentro del rango que se estableció en la presente investigación ya que Heras *et al.* (2013), determinaron que la temperatura óptima de extracción de antocianinas se encuentra en 30 °C y para Kechinski *et al.* (2010), la temperatura está en 36 °C, mientras que para pH de acuerdo a Flores y Chicaiza 2016, el valor es de 2.37.

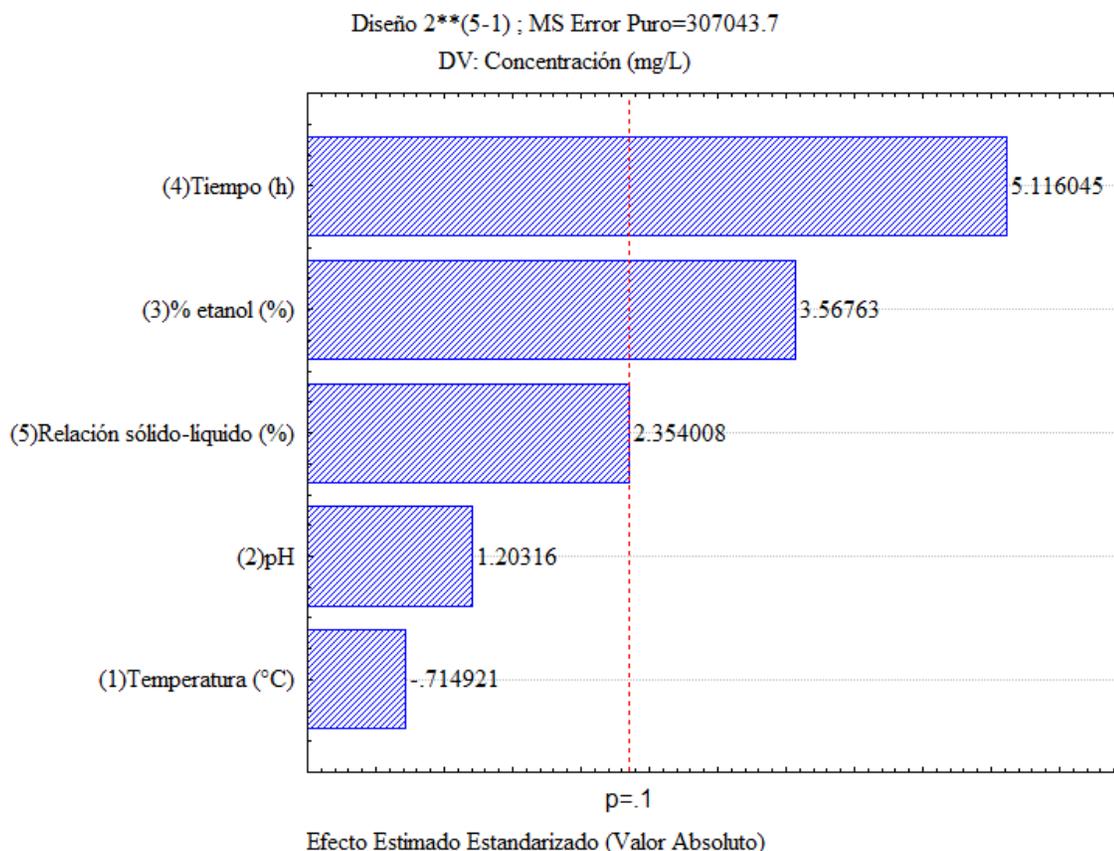


Figura 1. Variables significativas diseño de 1/2 fracción para extracción de antocianina de flor de Jamaica.

A continuación para encontrar la concentración óptima de antocianinas se usaron las variables que fueron significativas anteriormente (tiempo (h), etanol (%) y relación sólido-

líquido (%). Se usó un rango de tiempo de 0-8 h, etanol de 39-60% y relación sólido-líquido de 16-29%. La concentración de solución de antocianinas de flor de Jamaica se expresó en mg/L (Cuadro 10).

Cuadro 10. Concentración de antocianinas de flor de Jamaica para diseño fraccionado completo.

<b>Tratamientos</b>	<b>Etanol (%)</b>	<b>Relación sólido-líquido (%)</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>
1	44.00	19.00	1.62	2651
2	56.00	19.00	1.62	1840
3	44.00	27.00	1.62	1445
4	56.00	27.00	1.62	1020
5	44.00	19.00	6.38	1074
6	56.00	19.00	6.38	1724
7	44.00	27.00	6.38	1963
8	56.00	27.00	6.38	1515
9	39.91	23.00	4.00	2211
10	60.09	23.00	4.00	1337
11	50.00	16.27	4.00	1244
12	50.00	29.73	4.00	2736
13	50.00	23.00	0.00	951
14	50.00	23.00	8.00	1956
15 ©	50.00	23.00	4.00	1453
16 ©	50.00	23.00	4.00	1415
17 ©	50.00	23.00	4.00	1654
18 ©	50.00	23.00	4.00	1909
19 ©	50.00	23.00	4.00	1500
20 ©	50.00	23.00	4.00	1616

© Puntos centrales.

El análisis fue categorizado como significativo y tendencioso ya que el coeficiente de variación fue mayor al 30% ( $R^2 = 0.49$ ), lo que demuestra que el 49% de los datos fueron predichos por el modelo. Además, el modelo fue clasificado como tendencioso ya que la falta de ajuste fue significativa, ( $p < 0.10$ ), dentro de los modelos de análisis de regresión la falta de ajuste nos explica cuanto el modelo no logra describir de la relación de las variables independientes con las variables dependientes (Rodrigues 2015). Por otra parte, se realizó la prueba F y el modelo fue clasificado como predictivo ya que el F calculado (8.77) fue mayor que el F tabular (2.347). Debido a que no todos los factores se cumplieron para clasificar el modelo como predictivo, el modelo es clasificado como tendencioso (Cuadro 11).

Cuadro 11. Coeficientes de regresión para concentración de antocianinas en función de tiempo (h) (X<sub>1</sub>), relación sólido-líquido (%) (X<sub>2</sub>) y etanol (%) (X<sub>3</sub>).

<b>Factor</b>	<b>Coefficiente de Regresión</b>
Intercepto	1594.058 <sup>^</sup>
X <sub>1</sub> (L)	-183.401 <sup>^</sup>
X <sub>1</sub> (Q)	44.839
X <sub>2</sub> (L)	85.245
X <sub>2</sub> (Q)	121.341 <sup>^</sup>
X <sub>3</sub> (L)	73.946
X <sub>3</sub> (Q)	-68.547
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-88.892
X <sub>1</sub> *X <sub>3</sub>	179.716 <sup>^</sup>
X <sub>2</sub> *X <sub>3</sub>	338.176 <sup>^</sup>
<b>Falta Ajuste</b>	0.007
<b>R<sup>2</sup></b>	0.494
<b>F. calculado</b>	8.770
<b>F. tabular</b>	2.347

Los coeficientes con <sup>^</sup> son clasificados como significativos (p < 0.10).

L = relación lineal, Q = relación cuadrática.

X<sub>1</sub>= tiempo (h), X<sub>2</sub>= relación sólido-líquido (%), X<sub>3</sub>= etanol (%).

A continuación se expresó la ecuación matemática que representó la concentración de antocianinas obtenidas (mg/L), el polinomio expresado es cuadrático de segundo orden el cual fue descrito por los coeficientes de regresión para las variables significativas presentes en la ecuación 13.

$$Con. \left( \frac{mg}{L} \right) = 1594.06 - 183.40 X_1 + 121.34 X_2^2 + 179.72 X_1 * X_3 + 338.18 X_2 * X_3 \quad [13]$$

Donde:

X<sub>1</sub>= tiempo (h).

X<sub>2</sub>= relación sólido-líquido (%).

X<sub>3</sub>= etanol (%).

Los gráficos de superficie de respuesta fueron generados por el modelo y se encontraron interacciones entre las variables independientes. El etanol (%) y la relación sólido-líquido (%) tienen una influencia muy similar dentro de la concentración de antocianinas (Figura 2). Las antocianinas son solubles en varios solventes gracias a la polaridad que poseen, a pesar de esto una alta cantidad de agua dentro del solvente causa degradación de las antocianinas debido a que existiría una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio que al juntarse forman una pseudobase inestable carbinol o hemicetal y la forma chalcona (Garzón 2008), por esta razón, al aumentar la cantidad de etanol la cantidad de antocianinas extraídas posee una tendencia a aumentar, así como al aumentar la cantidad de sólidos disponibles, la concentración aumentará. El valor óptimo encontrado para etanol es de 41.59% y de relación sólido-líquido es de 29.72%.

Los resultados obtenidos sugieren que la cantidad presente de sólidos dentro de la solución fue muy baja en comparación con la cantidad de etanol presente dentro de la misma, el solvente nunca llegó a un equilibrio con el soluto. Por otra parte, una mayor cantidad de etanol después de 41.59% no presentó mejoras significativas en la cantidad de antocianinas extraídas, esto debido a que existe un principio básico dentro de la extracción conocida como afinidad (Silva *et al.* 2007).

Las cargas polares y no polares de las antocianinas permiten la unión a distintos compuestos, es por eso que una relación agua y etanol nos permite una mejor extracción ya que delfinidina y cianidina, antocianinas que se encuentra en mayor porcentaje dentro de la flor de Jamaica (71.4% y 26.6% respectivamente), (Cid y Guerrero 2012), tuvieron mayor oportunidad de unirse y por ende extraerse (Kechinski *et al.* 2010).

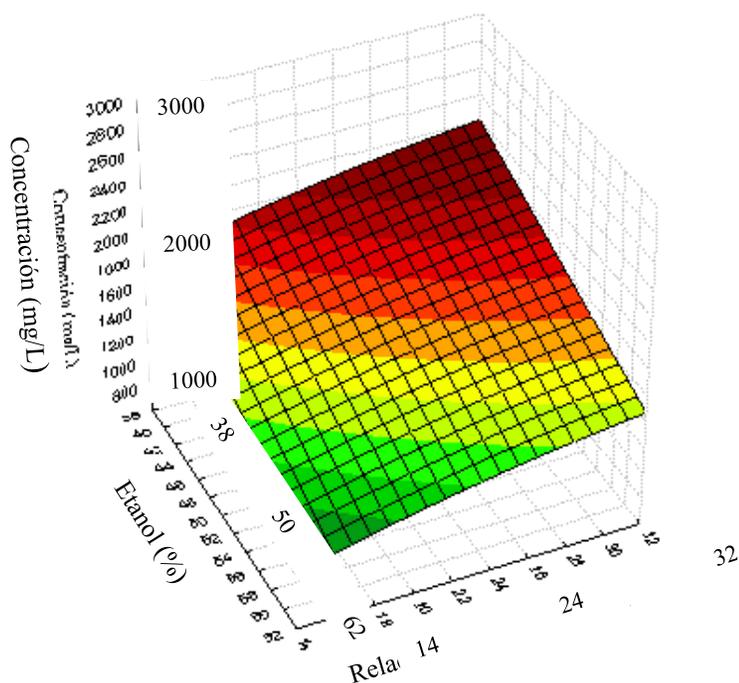


Figura 2. Efecto de etanol (%) y relación sólido líquido (%) con respecto a la concentración de antocianinas.

El uso de etanol como solvente nos permite poder realizar aplicaciones más reales a la industria alimenticia y farmacéutica ya que el etanol es menos tóxico que el metanol y no existen diferencias significativas en lecturas de absorbancia o eficiencia de extracción entre estos dos solventes, (Abdel-Aal *et al.* 2008) razón por la cual etanol fue el agente utilizado para realizar la extracción.

Para la variables tiempo y etanol los valores encontrado como óptimos fueron 8 horas y 41.59% respectivamente. Se observó el efecto que existe entre estas dos variables y se pudo determinar que un mayor tiempo de maceración por parte de la solución con el soluto

permitió una mayor extracción y por ende una mayor concentración de antocianinas (Figura 3). La relación entre estas dos variables está también determinada por el principio de afinidad ya que a mayor tiempo exponamos el soluto al solvente mayor oportunidad habrá de extracción de los mismos (Silva *et al.* 2007). Además, debido a que el tiempo fue de 8 horas, el cual fue uno de los puntos axiales dentro del diseño, sugiere que el tiempo de exposición no fue el suficiente para que el solvente pueda extraer todas las antocianinas presentes o, que la cantidad de soluto no fue la suficiente para la cantidad del solvente agregada y por ende se necesite un mayor tiempo para su extracción.

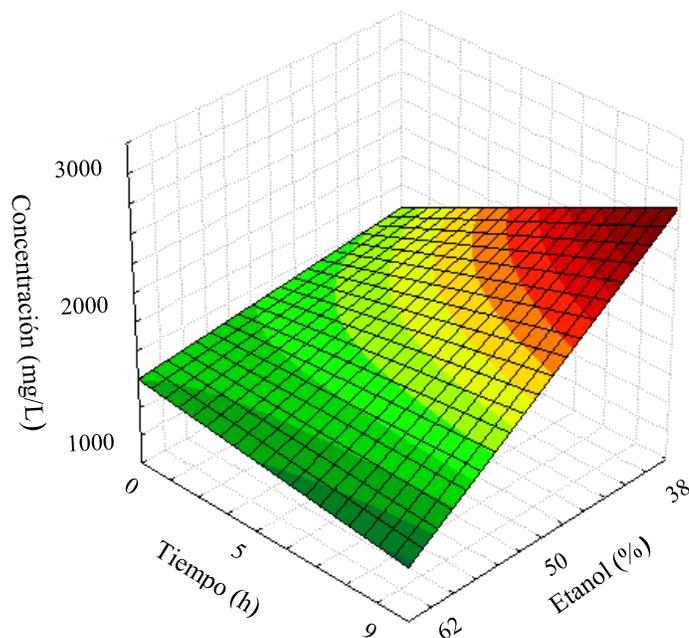


Figura 3. Efecto del tiempo (h) y etanol (%) con respecto a la concentración de antocianinas.

Las variables tiempo y relación sólido-líquido tuvieron valores óptimos de 8 horas y 29.72% respectivamente. Se observó que a medida aumentó el tiempo y la relación sólido-líquido mayor fue la concentración de antocianinas (Figura 4). Para el proceso de maceración para la obtención de antocianinas a medida que aumento la concentración de soluto mayor será la cantidad de antocianinas extraídas debido a una mayor concentración inicial. Por otra parte el tiempo a medida que aumenta mayor será la concentración de antocianinas ya que existe mayor oportunidad de maceración por parte del solvente (Awika *et al.* 2005).

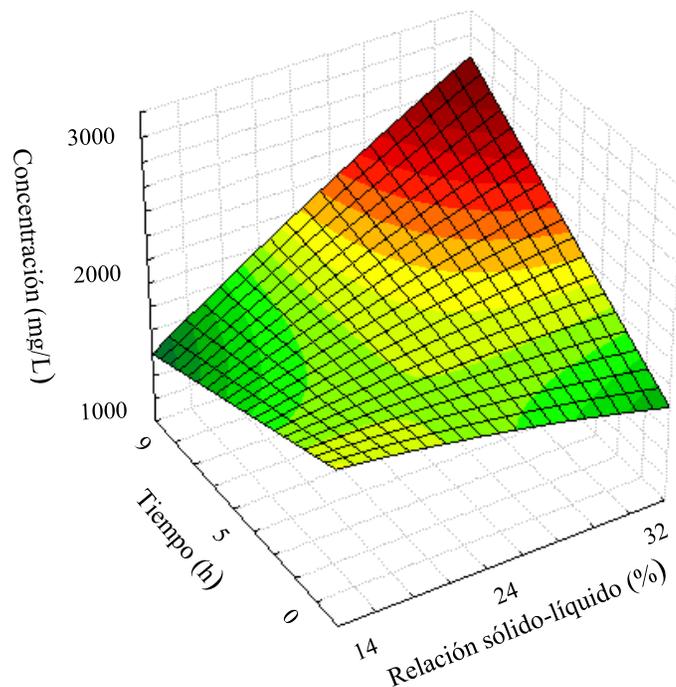


Figura 4. Efecto del tiempo (h) y relación sólido-líquido (%) con respecto a la concentración de antocianinas.

Es importante recalcar que la temperatura de 31 °C y pH de 3.24 tienen su influencia dentro de la capacidad de extracción de los componentes antocianos. El pH tiene su efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. Valores de pH bajos tienen un efecto protector sobre las moléculas de antocianinas, es más, en la literatura se reporta que valores de pH por debajo de dos, el 100% del pigmento se encuentra en su forma más estable de ion oxonio o catión flavilio provocando colores rojos intensos, mientras que a valores de pH mayores a siete se presentan las formas quinoidales las cuales se degradan rápidamente por oxidación con el aire dando colores púrpuras (Garzón 2008). Por otra parte, incrementos en temperatura provocan pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula causando la producción de chalconas incoloras (Timberlake 1980).

Después de identificar las relaciones entre las variables independientes se estableció el punto óptimo de extracción de antocianinas % etanol de 41.59%, relación sólido líquido de 29.72% y tiempo de 8 horas (Figura 5). Con la combinación de estas variables la concentración de antocianinas es de 3000 mg/L expresado en cianidina 3-glucósido. En un estudio realizado por Galicia-Flores *et al.* 2008 bajo similares condiciones, se reportó un contenido de antocianinas totales de 364.98 mg/100 g lo cual fue cercano a lo obtenido en el presente estudio (300 mg/100 g).

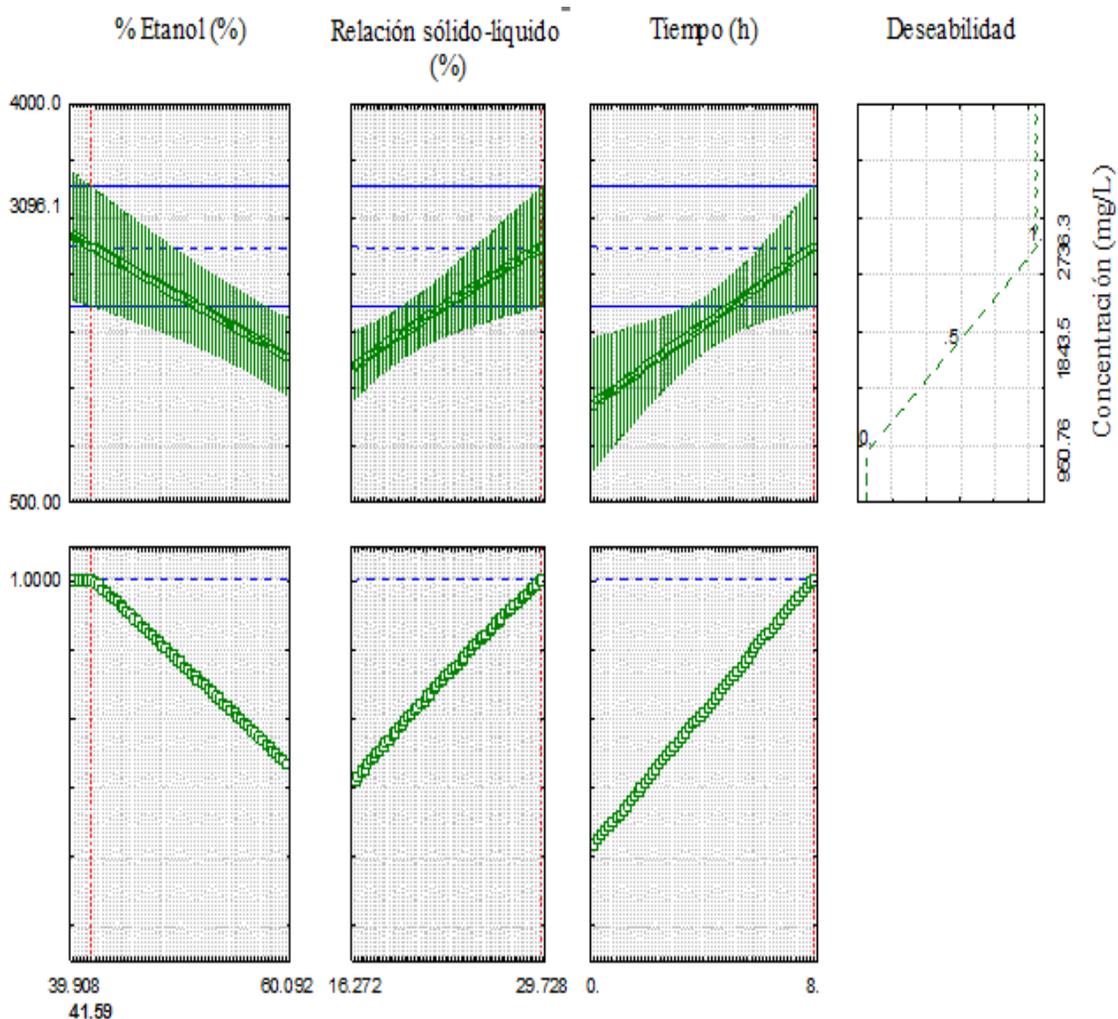


Figura 5. Función de utilidad con respecto a las variables tiempo (h), relación sólido-líquido (%) y etanol (%).

Debido a que los valores óptimos de relación sólido-líquido y tiempo fueron los colocados como puntos axiales del estudio, se sugiere que exista una dislocación del punto central para estas variables para encontrar la relación e interacción que existe de las mismas a valores mayores y por ende encontrar un valor donde se maximice la concentración de antocianinas extraídas.

## Fase II. Optimización de la microencapsulación de antocianinas de la flor de Jamaica.

Para determinar la microencapsulación óptima de antocianinas se utilizaron las variables (almidón-alginato (%) y temperatura (°C)). Se utilizó un rango de almidón-alginato (%) de 0.59-3.41% y temperatura de 153.44-198.56 °C, los cuales se establecieron a partir de los puntos centrales que se determinaron mediante literatura (Arrazola *et al.* 2014); (Gülay *et al.* 2014). La eficiencia y rendimiento se expresaron en % (Cuadro 12).

Cuadro 12. Eficiencia y rendimiento de microencapsulación de antocianinas mediante secado por aspersión.

<b>Tratamientos</b>	<b>Almidón-alginato (%)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
1	1.00	176.00	88.67	50.00
2	3.00	176.00	95.13	56.67
3	1.00	192.00	88.40	58.00
4	3.00	192.00	94.79	59.33
5	0.59	176.00	85.67	59.32
6	3.41	176.00	96.02	57.45
7	2.00	153.44	93.99	46.50
8	2.00	198.56	92.66	72.50
9 ©	2.00	176.00	93.46	65.30
10 ©	2.00	176.00	93.72	63.00
11 ©	2.00	176.00	94.26	60.60

© Puntos centrales.

El análisis para eficiencia fue categorizado como significativo y predictivo ya que el coeficiente de variación fue menor a 30% ( $R^2 = 0.989$ ), lo que determina que el 99% de los datos se ajustaron al modelo. Este modelo fue clasificado como predictivo ya que la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0.10$ ), por lo tanto, el modelo logró describir la relación de las variables independientes con las variables dependientes. Por otra parte, se realizó la prueba F en la que se obtuvo un valor F calculado (169.84), el cual fue mayor que el F tabular (3.113). A razón de que todos los factores se cumplieron se clasificó el modelo como predictivo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Coeficientes de regresión para eficiencia de microencapsulación de antocianinas en función de almidón-alginato (%) ( $X_1$ ) y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $X_2$ ).

<b>Factor</b>	<b>Coefficiente de Regresión</b>
Intercepto	93.814 <sup>^</sup>
$X_1$ (L)	3.441 <sup>^</sup>
$X_1$ (Q)	-1.576 <sup>^</sup>
$X_2$ (L)	-0.311
$X_2$ (Q)	-0.329
$X_1 * X_2$	-0.018
<b>Falta Ajuste</b>	0.392
<b>R<sup>2</sup></b>	0.989
<b>F. calculado</b>	169.840
<b>F. tabular</b>	3.113

Los coeficientes con <sup>^</sup> son clasificados como significativos ( $p < 0.10$ )

L = relación lineal, Q = relación cuadrática

$X_1$ = almidón-alginato (%),  $X_2$ = temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ).

A continuación, se incluye la ecuación matemática que representó la eficiencia de microencapsulación bajo las condiciones en la que se estableció el experimento. El polinomio expresado es cuadrático de segundo orden el cual fue descrito por los coeficientes de regresión para las variables significativas de la ecuación 14.

$$\text{Eficiencia (\%)} = 93.8141 + 3.44 X_1 - 1.5758 X_1^2 \quad [14]$$

Donde:

$X_1$ = almidón-alginato (%).

En eficiencia de microencapsulación, para las variables temperatura y almidón-alginato (%) los valores óptimos obtenidos fueron 170.74  $^{\circ}\text{C}$  y 3.22% respectivamente. Se observó que a medida que se aumentó la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y almidón-alginato (%), hasta cierto punto causó un impacto positivo en la eficiencia. Sin embargo, se observa una caída en la curva en los tratamientos en los que se usaron temperaturas ( $^{\circ}\text{C}$ ) y almidón-alginato (%) máximas (Figura 6).

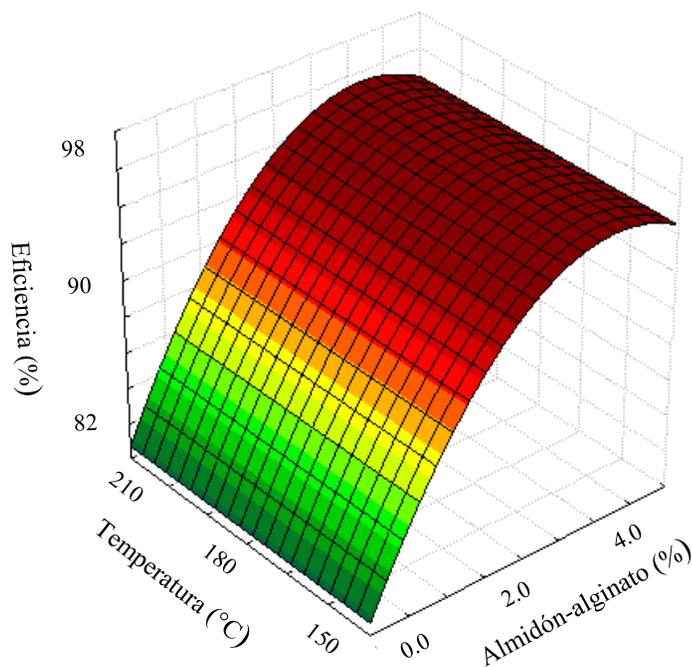


Figura 6. Efecto de la temperatura (°C) y almidón-alginato (%) con respecto a la eficiencia de microencapsulación.

Se encontró que la temperatura de entrada de aire influye negativamente en la eficiencia de microencapsulación, a medida que esta aumenta, la eficiencia disminuye. Estos resultados son congruentes con un estudio realizado por Figueroa *et al.* (2016), quienes estudiaron el efecto de las condiciones de proceso en la microencapsulación de aceite de mora mediante secado por aspersión. Se ha demostrado en otros estudios que a temperaturas de 150 °C y 180 °C, se obtienen altas eficiencias, sin embargo, las altas temperaturas del aire de entrada generan encapsulados con una capa delgada de recubrimiento que favorece la liberación adelantada y degradación del compuesto encapsulado, lo que provocará una disminución de la eficiencia de la microencapsulación (Arrazola *et al.* 2014).

Paralelamente, diferentes investigaciones muestran el uso de tratamientos utilizando sistemas combinados de almidón-alginato alcanzando un gran éxito en el aumento de la eficiencia de microencapsulación (Bryshila *et al.* 2012). El alginato es un agente encapsulante que presenta ventajas de formar fácilmente matrices de gel alrededor de compuestos activos, es no tóxico, barato y con condiciones de proceso simples, en otros estudios para técnicas de microencapsulación (Pérez *et al.* 2013) se han utilizado concentraciones de 0.5-4% obteniendo eficiencias medias ya que las microcápsulas presentan dificultades de pérdida de integridad y estabilidad mecánica, además de formación de poros en la superficie y difusión relativamente rápida de la humedad, falencias que al ser combinadas con almidón son compensadas obteniendo eficiencias de entre 96-99% (Pérez *et al.* 2013).

El análisis para rendimiento fue categorizado como significativo y predictivo ya que el coeficiente de variación fue menor a 30% ( $R^2 = 0.713$ ), lo que determina que el 71% de los

datos se ajustaron al modelo. Además, la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0.10$ ), por lo tanto, el modelo pudo describir adecuadamente la relación de las variables independientes con las variables dependientes. Además se realizó la prueba F donde el valor F calculado (5.200) fue mayor que el F tabular (3.074). A razón de que todos los factores se cumplieron, se clasificó el modelo como predictivo (Cuadro 14).

Cuadro 13. Coeficientes de regresión para rendimiento de microencapsulación de antocianinas en función de almidón-alginato (%) ( $X_1$ ) y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $X_2$ ).

<b>Factor</b>	<b>Coefficiente de Regresión</b>
Intercepto	62.988 <sup>^</sup>
$X_1$ (L)	2.440 <sup>^</sup>
$X_1$ (Q)	-1.167
$X_2$ (L)	5.933 <sup>^</sup>
$X_2$ (Q)	-3.121 <sup>^</sup>
$X_1 * X_2$	-1.333
<b>Falta Ajuste</b>	0.104
<b>R<sup>2</sup></b>	0.713
<b>F. calculado</b>	5.200
<b>F. tabular</b>	3.074

Los coeficientes con <sup>^</sup> son clasificados como significativos ( $p < 0.10$ )

L = relación lineal, Q = relación cuadrática.

$X_1$ = almidón-alginato (%),  $X_2$ = temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ).

A continuación, se presenta la ecuación matemática con la que se determinó el rendimiento (%), expresado en la ecuación 15.

$$\text{Rendimiento (\%)} = 62.98822 + 2.44 X_1 + 5.933485 X_2 - 3.121012162 X_2^2 \quad [15]$$

Donde:

$X_1$ = almidón-alginato (%).

$X_2$ = temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ).

Para rendimiento del proceso de microencapsulación, el factor temperatura y almidón-alginato (%) fueron de 170.74  $^{\circ}\text{C}$  y 3.22% respectivamente. Se puede observar en la gráfica que la temperatura y el porcentaje de agentes encapsulantes causan un efecto positivo hasta cierto punto ya que al aumentar estos factores hacia los puntos axiales la curva presenta un declive (Figura 7).

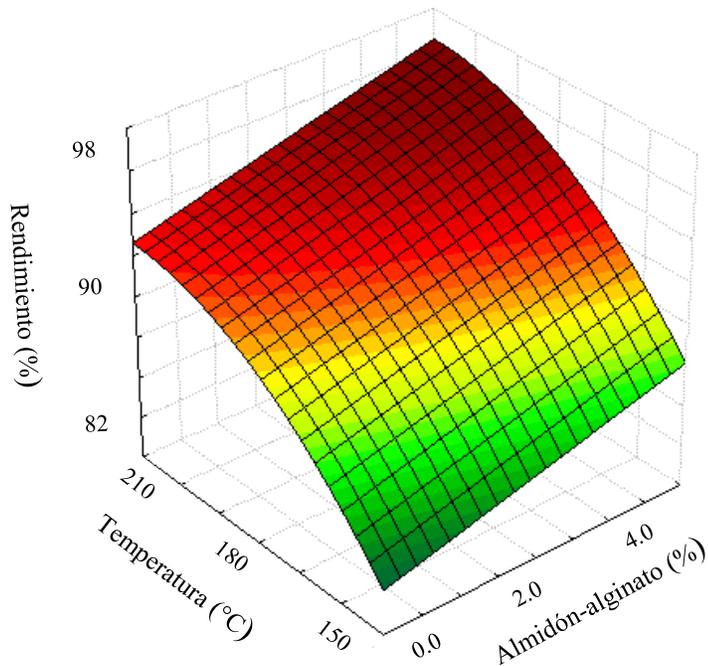


Figura 7. Efecto de temperatura (°C) y almidón-alginato (%) con respecto al rendimiento de microencapsulación.

En el estudio de Figueroa *et al.* (2016) se encontró que el rendimiento aumentó con el incremento de la temperatura del aire de entrada, debido a que en el secado por atomización a elevadas temperaturas, se produce mayor eficiencia en los procesos de transferencia de calor y masa, resultando en un rendimiento de microencapsulación más alto.

En cuanto al almidón-alginato (%) se encontró que el rendimiento se pudo ver afectado por pérdidas de polvo durante el secado, debido principalmente a la aglomeración de algunas partículas del polvo que se depositan sobre la pared de la cámara secadora, y en el ciclón (Arrazola *et al.* 2014), probablemente debido a la alta viscosidad de la mezcla (Lopez *et al.* 2009) o también a la velocidad de alimentación (Figueroa *et al.* 2016), la cual no fue considerada como variable en este estudio.

El punto óptimo de microencapsulación se estableció en almidón-alginato (%) de 3.22% y temperatura de 170.74 °C, con la combinación de estas variables la eficiencia (%) y el rendimiento (%) de microencapsulación fueron de 96.02% y 60.80%, respectivamente (Figura 8).

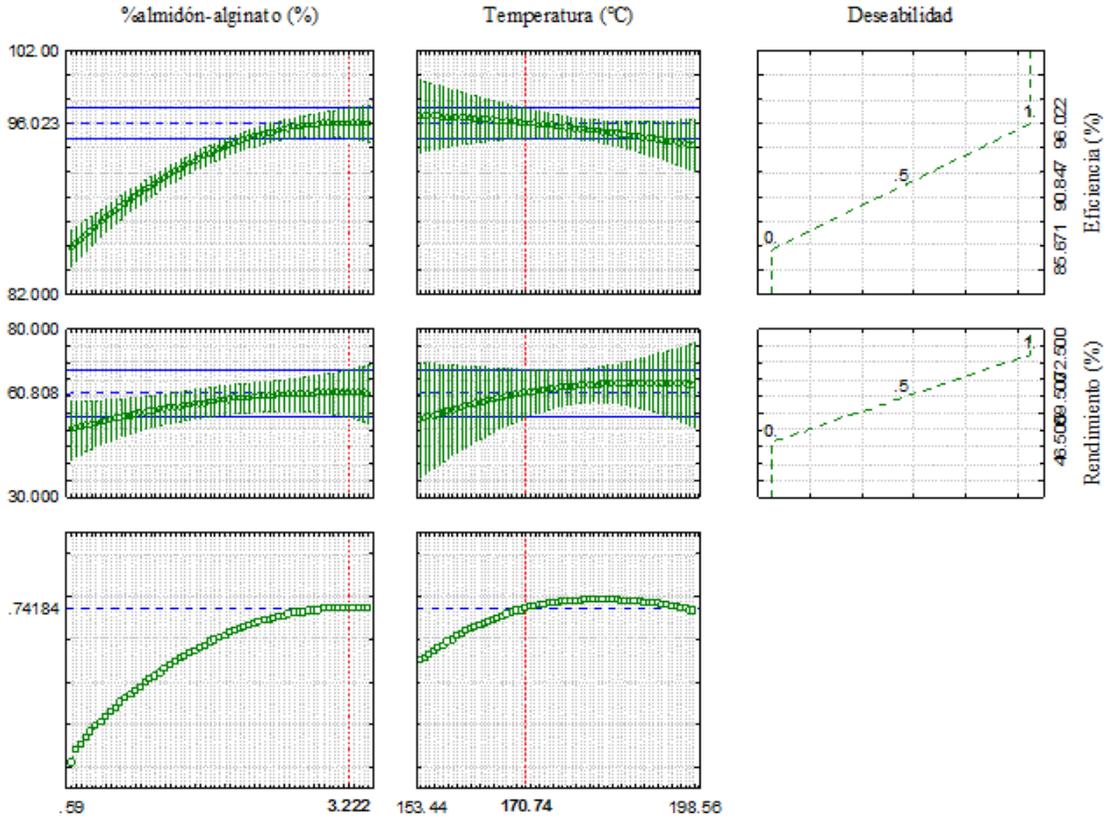


Figura 8. Función de utilidad con respecto a las variables almidón-alginato (%) y temperatura (°C).

Investigaciones realizadas por Arrazola *et al.* (2014), reportan eficiencias de 98.4%, utilizando maltodextrina como agente encapsulante en una concentración de 30% y temperatura de 170 °C, lo cual se asemeja a lo encontrado en esta investigación. Se puede decir que nuestros resultados son congruentes con lo estudiado por Bryshila *et al.* (2012), que demuestra que al emplear sistemas mixtos poliméricos como el almidón-alginato para la formación de la matriz se obtienen mejores resultados en la eficiencia de microencapsulación, tomando en cuenta que el porcentaje de maltodextrina es considerablemente mayor al utilizado en ese estudio que en el que se empleó sistemas compuestos.

En estudios realizados por Arrazola *et al.* (2014), obtuvieron el rendimiento más alto (90.74%), utilizando 30% de maltodextrina y temperatura de secado de 180 °C. Los porcentajes menores de rendimiento de este estudio probablemente son debido a que la velocidad de alimentación no fue considerada como una variable independiente y fue constante en todos los tratamientos utilizando la máxima. Según Figueroa *et al.* (2016) al emplear mayor velocidad de alimentación, se observan aglomeraciones de microcápsulas en algunos sectores del equipo que no pueden ser recuperados, disminuyendo el rendimiento del proceso.

### Fase III. Evaluación de la capacidad antioxidante de antocianinas de la flor de Jamaica.

La medición de la capacidad antioxidante de las antocianinas de flor de Jamaica en muestra de grasa se evaluó mediante el índice de estabilidad oxidativa. La estabilidad oxidativa de grasas o aceites puede ser estimada utilizando pruebas aceleradas, donde el suministro de oxígeno a elevadas temperaturas, permite una alteración más rápida. El tiempo de inducción es un parámetro muy usado de medición ya que su extensión refleja la capacidad que posee un compuesto a resistir la oxidación (Rauen 1992)

Los resultados sugieren que la muestra con mayor tiempo de inducción es BHT (35.507 h) (Cuadro 15). Butilhidroxitolueno (BHT) es un compuesto usado en la industria alimenticia debido a su capacidad de solubilidad en matrices lipídicas gracias a su estructura de un anillo crómico con cola fítica y un grupo hidroxilo en la cabeza (Delgado *et al.* 2015). Este agente actúa en la etapa de propagación reaccionando con los radicales para convertirlos en compuestos más estables. Por otra parte, se observó que las antocianinas encapsuladas presentaron el segundo mejor tiempo (30.39 h).

Cuadro 15. Resultados análisis de estabilidad oxidativa.

Sistemas	Tiempo de inducción
Control	22.49 ± 2.97 C
Antocianinas encapsuladas	30.39 ± 0.83 B
Antocianinas sin encapsular	2.57 ± 0.30 D
BHT	35.50 ± 0.42 A
C.V (%)	6.85

ABCD Letras distintas representan diferencias significativas con  $p < 0.05$ .

C.V. (%) Coeficiente de variación.

El agente encapsulante es utilizado para brindar protección al agente núcleo (antocianinas) las cuales son sensibles a altas temperaturas. Podemos observar que existieron diferencias significativas entre el tratamiento antocianinas sin encapsular y antocianinas encapsuladas lo que sugiere que el agente encapsulante actuó como protector y permitió que las antocianinas puedan tener el efecto antioxidante dentro de la matriz lipídica (Esquivel *et al.* 2015). Las antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y contra los radicales peróxido ( $ROO^*$ ), superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxilo ( $^{\cdot}OH$ ) y oxígeno sigulente ( $^1O_2$ ) (Martínez *et al.* 2002). Dado esto, debido a que en la fase de propagación de oxidación de aceites vegetales los radicales reaccionan con el oxígeno para formar radicales peróxido, las antocianinas reaccionan con estos radicales para convertirlos en compuestos más estables y evitar la formación de hidroperóxidos y nuevos radicales libres que continuarán con este proceso de oxidación.

Por otra parte, se observó que con el uso de antocianinas sin encapsular el tiempo de inducción es mucho menor que el tratamiento control en 92.7%, esto se debe a que las antocianinas sin el debido cuidado pueden presentar efectos prooxidantes. La autooxidación del radical aroxilo genera el dañino radical hidroxilo ( $OH^+$ ) (Martínez *et al.* 2002) y este

radical debido a que es una especie reactiva del oxígeno que promueve la oxidación. Las antocianinas sin encapsular no presentaban ninguna protección y estuvieron expuestas a luz y altas temperaturas durante la evaluación, por lo que promovieron la oxidación del aceite al generar radicales libres que aceleraron este proceso.

#### 4. CONCLUSIONES

- El punto óptimo para obtener una mayor extracción de antocianinas de flor de Jamaica fue de etanol 41.59 %, relación sólido-líquido de 29.72% y tiempo de 8 horas.
- El punto óptimo para obtener mayor eficiencia y rendimiento de microencapsulación de antocianinas de flor de Jamaica mediante el método de secado por aspersión fue de una temperatura de 170.74 °C y 3.22% almidón-alginato (%).
- Las antocianinas encapsuladas tuvieron un tiempo de inducción de  $30.39 \pm 0.830$  h, el cual demostró la efectividad antioxidante de las mismas y fue mayor que las antocianinas sin encapsular.
- No se determinó la efectividad antioxidante de las antocianinas sin encapsular ya que la temperatura (120 °C) degradó las mismas promoviendo la oxidación de la matriz lipídica.

## 5. RECOMENDACIONES

- Dislocar los puntos centrales de las variables relación sólido-líquido y tiempo para poder encontrar puntos óptimos y así mejorar la concentración de antocianinas extraídas.
- Purificar el extracto de antocianinas por medio de un rotoevaporador para mejorar la cuantificación de las mismas.
- Realizar un análisis de cuantificación mediante HPLC para poder tener valores de concentración más precisos y exactos y además poder realizar una identificación de las antocianinas presentes en la flor de Jamaica.
- Realizar un análisis de optimización de microencapsulación utilizando más variables independientes como presión de bomba y velocidad de alimentación al aspersor.
- Realizar una prueba en alimentos de alta acidez utilizando las antocianinas microencapsuladas como un ingrediente alimenticio y evaluar su capacidad antioxidante y su capacidad de pigmentación.
- Evaluar las características fisicoquímicas de las antocianinas microencapsuladas como contenido de humedad, actividad de agua, higroscopicidad, solubilidad, densidad y retención de pigmento.

## 6. LITERATURA CITADA

Abdel-Aal M, Abou-Arab AA, Gamel H, Hucl, P, Young J, Rabalski I. 2008. Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (23): 11171–11177. DOI: 10.1021/jf802168c.

Aguilera M, Reza-Vargas M, Chew-Madinaveita R, Meza-Velázquez J. 2015. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia*. 13 (2): 16. DOI: 10.18633/bt.v13i2.81.

Arrazola G, Herazo I, Alvis A. 2014. Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena L.*) mediante secado por aspersion y Evaluación de la Estabilidad de su Color y Capacidad Antioxidante. *Información Tecnológica*. 25 (3): 31–42. DOI: 10.4067/S0718-07642014000300006.

Awika J, Rooney L, Waniska R. 2005. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 90 (1-2): 293–301. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.058.

Bozkurt H, Belibağlı K. 2009. Use of rosemary and *Hibiscus sabdariffa* in production of kavurma, a cooked meat product. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 89 (7): 1168–1173. DOI: 10.1002/jsfa.3570.

Bryshila L, González C, Maestro A. 2012. Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología*. [consultado 2017 jun 27]. 3 (1): 130-151. <http://sgspwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/alginatos.pdf>.

Carvajal O, Waliszewski S, Infanzón R. 2016. Los usos y maravilla de la Jamaica. Universidad Veracruzana. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica*. [consultado 2017 jul 02]. 19 (2): 101-105. <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num2/articulos/jamaica/index.html>.

Cid S, Guerrero J. 2012. Propiedades funcionales de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. [consultado 2017 jul 01]. 6 (2): 47-63. <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Cid-Ortega-et-al-2012.pdf>.

Da Silva A, Da Costa M, Teixeira M, Da Silva V, Sartoratto A, Rodrigues R, Hubinger M. 2016. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containing anthocyanins of jussara (*Euterpe edulis Martius*) extract. *Powder Technology*. 294 (1): 421–428. DOI: 10.1016/j.powtec.2016.03.007.

Daramola B, Asunni O. 2006. Nutrient composition and storage studies on roselle extract enriched deep-fat-fried snack food. *African Journal of Biotechnology*. 5 (19): 1803-1804. DOI:10.5897/AJB06.345.

Delgado A, Palacio O, Aperador W. 2015. Efecto de Butil Hidroxitolueno (BHT) en la Estabilidad Oxidativa de un Lubricante a Base de Aceite de Ajonjolí. *Información Tecnológica*. 26 (4): 81–88. DOI: 10.4067/S0718-07642015000400011.

Esquivel-González B, Ochoa L, Rutiaga-Quiñones O. 2015. Microencapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. [consultado 2017 jul 03]. 6 (2): 180-192. <http://www.redalyc.org/pdf/813/81343176006.pdf>.

Feurer P. 2016. Oxidation stability of fats and oils in solid foodstuffs – Rancimat method. [internet]. Tailandia: Metrohm. [consultado 2017 jun 29]. <https://www.metrohm.com/en-th/company/news/news-th-oxidation-stability-of-fats-and-oils-in-solid-foodstuffs-by-rancimat/>.

Figuerola P, Miguel A. 2016. Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (*Rubus glaucus*) extraído con CO<sub>2</sub> supercrítico. *Revista Colombiana de Química*. 45 (2): 39-37. DOI: 10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481.

Flores E, Chicaiza V. 2016. Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano-Honduras. 33 p.

Galicia-Flores L, Salinas-Moreno Y, Espinoza-García, B. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Nacional e importada. *Revista Chapingo*. [consultado 2017 jun 30]. 14(2): 150-160. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911556003>.

Garzón G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. *Revista Acta Biológica Colombiana*. [consultado 2017 jul 01]. 13(3): 45-70. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2008000300002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300002).

Gharsallaoui A, Roudaut O, Chambin A, Voilley R. 2007. Applications of Spray-drying in microencapsulation of food ingredients. *Food Research International*. [consultado 2017 jul 25]. 40 (10): 1107-1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>

Gülay Ö. 2014. Microencapsulation of natural food colourants. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 3(3): 145-156. DOI: 10.11648/j.ijnfs.20140303.13.

Heras I, Alvis A, Arrazola G. 2014. Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Berenjena (*Solana melonera* L.). *Información Tecnológica*. 24 (5): 93–102. DOI: 10.4067/S0718-07642013000500011.

Hermosilla E. 2012. Encapsulación de una molécula modelo de bajo peso molecular en microcápsula de alginato de calcio. [Tesis]. Universidad Austral-Chile. 78 p.

Kechinski C, Guimarães P, Noreña C, Tessaro I, Marczak L. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Journal of Food Science*. 75 (2): C173-6. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01479.x.

Lopez B, Carvajal M, Millan L. 2009. Establecimiento de condiciones de la mezcla de pulpa de banano (*Musa paradisiaca L.*) para someter a secado por aspersión. *Revista Facultad Química Farmacéutica*. [consultado 2017 jul 15]. 16(3): 287-296. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a02.pdf>.

Lopez S. 2015. Actividad antioxidante del extracto de flor de *Clitoria ternatea* contra la oxidación del colesterol. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano-Honduras. 23 p.

Martínez J, González-Gallego J, Culebras M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. [consultado 2017 jul 19]. 17(6): 271-278. <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>.

Ohgami K, Ilieva I, Shiratori K, Koyama Y, Jin X, Yoshida K. 2005. Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Journal of Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 46 (1): 275–281. DOI: 10.1167/iovs.04-0715.

Pérez H, Bueno-García G, Brizuela-Herrada A. 2013. Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. [consultado 2017 jul 20]. 47(1): 14-25. <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223126409003.pdf>.

Prieto L, Vela M, Del Valle V. 2015. Elaboración de extractos de *Hibiscus sabdariffa* (Rosa de Jamaica), *Rubus ulmifolius* (Mora) y *Beta vulgaris* (Remolacha) aplicados como colorantes naturales en la elaboración de productos cosméticos y evaluación de la estabilidad de los cosméticos fabricados. [Tesis]. Universidad de San Carlos-España. 80 p.

Rauen A. 1992. Determinación del período de inducción de aceite de soja - Correlación entre el Rancimat y otros índices. Universidad Estadual de Campinas. *Revista Consejo Superior de Investigación Científica*. [consultado 2017 jul 30]. 43(3): 119-122. <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/viewFile/1162/1168>.

Rodrigues M, Lemma A. 2015. *Experimental Design and Process Optimization*. London (UK): Taylor & Francis Group. ISBN: 13:978-1-4822-9956-4.

Salazar C, Vergara F, Guerrero J. 2009. Evaluación de agentes antioxidantes de un extracto de flor de Jamaica microencapsulado. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. [consultado 2017 jul 01]. 3 (1): 63-70. [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSIA-3\(2\)-Salazar-Gonzalez-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-2/TSIA-3(2)-Salazar-Gonzalez-et-al-2009.pdf).

Sanchez Z. 2016. Evaluación de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y sensoriales de microencapsulados de cacao obtenidos por spray drying. [Tesis]. Universidad Nacional de Colombia-Colombia. 80 p.

Silva E, Rogez H, Larondelle Y. 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*. 55 (3): 381–387. DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.008.

Timberlake C. 1980. Anthocyanins Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chemistry*. 5 (1): 69–80. DOI: 10.1016/0308-8146(80)90065-5.

Vera Z, González S. 2013. Efecto de la concentración de cardamomo (*Elettaria cardamomum*) y niveles de pH en las características Físico-Químicas y sensoriales en el Vino de Rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano-Honduras. 25 p.

Villena M, Morales M, Gallardo L, Ruiz M. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*. [consultado 2017 jun 30]. 50(1): 43-50. <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/452.pdf>.

Vuarant C. 2013. Optimización del proceso de secado de arándanos por infrarrojos. [Tesis]. Universidad Politécnica de Valencia-España. 118 p.

## 7. ANEXOS

**Anexo 1.** Valor F calculado  $P < 0.10$  para variable concentración de antocianinas.

Fuente de Variación	SQ	GL	QM	F calculado	F tabular
Regresión linear	3932345.66	9.00	436927.30	8.77	2.35
Residual	498230.90	10.00	49823.09		
Total Corregido	4430576.55	19.00			

**Anexo 2.** Valor F calculado  $P < 0.10$  para variable eficiencia de microencapsulación.

Fuente de Variación	SQ	GL	QM	F calculado	F tabular
Regresión linear	108.35	2.00	54.17	169.84	3.11
Residual	2.55	8.00	0.32		
Total Corregido	110.90	10.00			

**Anexo 3.** Valor F calculado  $P < 0.10$  para variable rendimiento de microencapsulación.

Fuente de Variación	SQ	GL	QM	F calculado	F tabular
Regresión linear	382.85	3.00	127.62	5.20	3.07
Residual	171.66	7.00	24.52		
Total Corregido	554.51	10.00			

**Anexo 4.** Sintaxis de SAS 9.4 de tiempo de inducción.

```

DATA ANTOCIANINAS;
INPUT TRT$ REP TIEMPO_INDUCCION;
DATALINES;
CON 1 25.07
CON 2 23.17
CON 3 19.23
TBH 1 48.82
TBH 2 35.68
TBH 3 35.02
ANE 1 30.43
ANE 2 29.54
ANE 3 31.20
ANL 1 2.74
ANL 2 2.77
ANL 3 2.22
;
PROC GLM;
CLASS TRT REP;
MODEL TIEMPO_INDUCCION=TRT REP;
MEANS TRT/DUNCAN;
ODS HTML CLOSE;
ODS HTML;
RUN;

```

**Anexo 5.** Secador por aspersión para microencapsulación.



**Anexo 6.** Microcápsulas de antocianinas de flor de Jamaica.

