



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Diseño de un producto biofuncional a base de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) con aplicación en alimentos.

Camila Andrea Muñoz Muñoz

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2016

Diseño de un producto biofuncional a base de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) con aplicación en alimentos.

Camila Andrea Muñoz Muñoz

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:

Coralia Osorio Roa. Dr. Sc.

Departamento de Química

Línea de Investigación:

Desarrollo de productos con valor agregado

Grupo de Aditivos Naturales en Aroma y Color (GANAC)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2016

Agradecimientos

Deseo expresar mis agradecimientos:

A Colciencias, por la financiación de este proyecto, a través de la Red Nacional para la Bioprospección de Frutas Tropicales – RIFRUTBIO (contrato 0459-2013).

A mi directora de tesis Coralia Osorio, por darme la oportunidad de hacer parte de su grupo de investigación, por la orientación brindada, por su paciencia y por todos sus consejos.

Al Jardín Botánico José Celestino Mutis por el apoyo recibido mediante el programa de Estímulos a la Investigación *Thomas van der Hammen*.

A mi esposo Javier, por creer en mí, por motivarme a seguir y por su amor incondicional.

A mi mamá y a mi hermano, por su ejemplo, por su apoyo y por ser mi soporte.

A mis compañeras del grupo de investigación, Laura Juliana, Juliana, Diana, Johana, Carolina y Tatiana por acogerme en el grupo, por los momentos compartidos y por su colaboración en el laboratorio.

*A mis abuelitos, por permitirme emprender
este sueño. Todo lo que soy y todo lo que he
logrado se lo debo a ellos.
Algún día nos reuniremos de nuevo.*

Resumen

En la búsqueda de alternativas para incrementar la vida útil del lulo y preservar sus características biofuncionales (actividad antioxidante y actividad inhibitoria de ACE *Angiotensin Converting Enzyme*), se obtuvieron microencapsulados por *spray-drying* a partir de pulpa de lulo, maltodextrina y extractos de tres vegetales (brócoli, tomate y espinaca), utilizando maltodextrina como agente encapsulante. Estos vegetales fueron seleccionados teniendo en cuenta que exhibían propiedades antihipertensivas y tenían compuestos bioactivos como polifenoles y carotenoides. Los sólidos obtenidos se caracterizaron fisicoquímicamente, se determinó su valor de actividad de agua A_w , el contenido de fenoles totales y carotenoides totales. También se realizó análisis instrumental del color y análisis de compuestos volátiles de aroma mediante CG-EM. La morfología se evaluó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), evidenciando la formación de microcápsulas con apariencia esférica y uniforme y con tamaño de partícula menor a 10 μm . Los valores de A_w de los sólidos estuvieron en el rango de 0.27-0.37. El contenido de carotenoides totales fue mayor en los microencapsulados de lulo que contenían espinaca y la presencia de brócoli incrementó ligeramente la actividad antihipertensiva. Sin embargo las propiedades sensoriales se deterioraron por la presencia de "off-flavors". Así se escogió el microencapsulado de lulo, el cual se incorporó en una bebida láctea en tres concentraciones diferentes (3, 5 y 7%) encontrándose que a mayor concentración del microencapsulado, se incrementaba el valor de la actividad antioxidante en la bebida, así mismo, a esta concentración la bebida presentó mayor aceptación por parte de un panel de consumidores.

Palabras clave: *Spray drying*, frutas tropicales, carotenoides, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, actividad antihipertensiva.

Abstract

In the search for alternatives to increase the shelf-life and preserve the biofunctional properties of lulo fruit (antihypertensive activity and inhibitory activity of ACE *Angiotensin Converting Enzyme*), microencapsulates from lulo fruit pulp and maltodextrin and vegetable extracts were obtained by spray drying. These encapsulates were enriched with extracts from three vegetables that exhibited antihypertensive activity and high carotenoid-content. The obtained solids were physicochemical characterized and the total phenolic content and carotenoid content were determined. Instrumental analysis of color, volatile compounds analysis by CG-EM were performed. The formation of spherical and uniform microcapsules with particle size less than 10 μm were confirmed by SEM. The A_w values were ranged between 0.27-0.37. The total carotenoid content was higher in microencapsulates containing spinach, and the presence of broccoli lightly increased the antihypertensive activity, however, the sensory properties were deteriorate by the “off-flavors” formation.

According to the inhibitory activity and sensorial analysis. The lulo microencapsulate sample was selected for applying in a dairy beverage in three different concentrations (3, 5 y 7%). As a result, the total phenolic content and the antioxidant activity increased proportionally with the microencapsulate concentration and the beverage with the higher concentration had the higher acceptance by a non-trained panel.

Keywords: *Spray drying*, tropical fruits, carotenoids, antihypertensive activity, phenolic compounds, antioxidant activity, antihypertensive activity.

Contenido

	Pág.
Resumen	V
Lista de figuras.....	IIX
Lista de tablas	X
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XI
Introducción	1
1. Capítulo 1. Marco de Referencia	3
1.1 Lulo (<i>Solanum quitoense</i> Lam.) y sus propiedades biofuncionales.....	3
1.2 Productos biofuncionales con mezclas de fruta y hortalizas	7
1.3 Microencapsulación mediante spray drying	9
1.3.1 Proceso de <i>spray drying</i>	9
1.3.2 <i>Spray drying</i> en frutas y vegetales	11
1.4 Actividad antioxidante en frutas y hortalizas	14
1.5 Actividad antihipertensiva.....	15
1.5.1 Determinación de la actividad antihipertensiva <i>in vitro</i>	18
1.5.2 Estudios sobre la actividad antihipertensiva de vegetales.....	19
2. Capítulo 2. Justificación	21
3. Capítulo 3. Objetivos.....	23
3.1 Objetivo general	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. Capítulo 4. Materiales y Métodos	25
4.1 Materiales	25
4.2 Métodos	25
4.2.1 Caracterización del lulo y obtención de las mezclas de lulo y vegetales.	25
4.2.2 Microencapsulación por <i>spray drying</i>	26
4.2.3 Caracterización fisicoquímica de los sólidos	26
Determinación de la actividad de agua.....	26
Análisis instrumental del color	27
Caracterización morfológica de las microcápsulas	27
Determinación de fenoles totales	27
Determinación de carotenoides totales.....	28
4.2.4 Determinación de las propiedades biofuncionales de los sólidos.....	28

Actividad antioxidante	28
Determinación actividad antihipertensiva	28
4.2.5 Análisis Sensorial de los microencapsulados.	29
4.2.6 Análisis de compuestos volátiles de aroma mediante CG-EM.	30
4.2.7 Formulación de una bebida y Prueba sensorial a consumidores.	31
5. Capítulo 5. Resultados y Discusión.....	33
5.1 Caracterización fisicoquímica de los sólidos	33
5.2 Propiedades biofuncionales de los sólidos.....	40
5.3 Análisis sensorial descriptivo y evaluación de los compuestos activos en el aroma.....	42
5.4 Desarrollo y caracterización de la bebida funcional.....	47
6. Conclusiones	¡Error! Marcador no definido.
Producción académica	51
Bibliografía	59
A. Anexo: Formato de prueba de aceptación.....	67
B. Anexo: Micrografías de los microencapsulados de lulo y vegetales por SEM y gráficos de distribución de partícula.....	69
C. Anexo: Resultados del análisis sensorial.....	73

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Fruto de Lulo (<i>Solanum quitoense</i> Lam.)	3
Figura 2. Tendencias de la innovación en alimentos en Colombia.	8
Figura 3. Equipo de <i>spray drying</i> . Modelo Labplant SD-06.	10
Figura 4. Innovación en microencapsulación de alimentos.	12
Figura 5. Papel de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en la regulación de la presión sanguínea.	16
Figura 6. Localización de los parámetros de color de los microencapsulados de lulo y vegetales.	35
Figura 7. Fotografía de los microencapsulados de lulo y vegetales.	36
Figura 8. Micrografías de los microencapsulados por SEM y gráficos de distribución de partícula.	38
Figura 9. Perfil de sabor comparativo para los microencapsulados de lulo	44
Figura 10. Perfiles cromatográficos de los compuestos volátiles obtenidos por HS-MEFS/ CG-FID en columna FFAP, a partir de los sólidos microencapsulados de lulo.	46

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Composición química de Lulo (<i>Solanum quitoense</i> Lam.) por 100 gramos de parte comestible (peso fresco).....	5
Tabla 2. Algunos metabolitos secundarios encontrados en lulo (<i>Solanum quitoense</i> Lam).	6
Tabla 3. Descripción de las muestras para la obtención de los sólidos microencapsulados	26
Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales.....	34
Tabla 5. Parámetros de color de los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales.....	35
Tabla 6. Actividad antioxidante y antihipertensiva de los microencapsulados	42
Tabla 7. Suma de rangos y ordenación olor y sabor a lulo natural.....	43
Tabla 8. Diferencia entre la suma de rangos en olor y sabor a lulo.....	44
Tabla 9. Identificación de compuestos volátiles de olor activo en microencapsulados de lulo y vegetales.	45
Tabla 10. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la bebida láctea con adición de microencapsulado de lulo.	48

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
Aw	Actividad de agua
ABTS	Radical Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenztiazolina-6-sulfónico
ACE	Angiotensin-converting enzyme
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
CIE	Comisión de recomendaciones Iluminación.
DE	Equivalente de dextrosa.
DPPH	Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil.
FAE	Equivalentes de ácido ferúlico.
FRAP	Poder reductor antioxidante de Hierro.
HCL	Ácido clorhídrico
HHL	Hipuril-histidil-leucina
HS-MEFS	Headspace - Microextracción en fase sólida
NADPH	Forma reducida de la coenzima fosfato del dinucleótido de nicotinamida-adenina
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno.
RAAS	Sistema renina-angiotensina-aldosterona.
RAS	Sistema renina-angiotensina.
SEM	Scanning electron microscopy.
TEAC	Actividad antioxidante en equivalente Trolox.
TRAP	Poder Antioxidante Total de Captura de Radicales.
UV-Vis	Ultravioleta Visible.

Introducción

En Colombia el lulo (*Solanum quitoense* Lam) tiene importancia económica ya que el área total establecida en cultivos, reportada por la Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) para el año 2015, fue de 9.845 hectáreas y de estas, 5.097 hectáreas en etapa productiva. Además, entre el grupo de frutales, este cultivo fue el que presentó el mayor crecimiento, pasando de producir 30.590 toneladas en el año 2014 a 47.983 toneladas en 2015 con una variación positiva de 56,9% (DANE, 2015). Los departamentos de mayor producción son Huila, Valle del Cauca, Antioquia, Boyacá, Magdalena y Santander (*Base de datos de cifras agropecuarias en Colombia.*, 2014; Sierra & Vargas, 2015).

Colombia es uno de los países con mayor variedad de frutas en el mundo. Presenta una serie de factores que favorecen y potencian la producción de lulo, entre las que destacan: amplia variabilidad genética, nichos ecológicos apropiados para su siembra y cultivo, potencial agroindustrial, alternativa para la reconversión productiva, además de aceptación de los frutos por los consumidores (FAO, 2006). Aunque el principal mercado se encuentra en los propios países productores, el comercio de lulo a nivel mundial crece paulatinamente con el auge de las frutas exóticas. La exportación de la fruta en fresco presenta problemas debido a su alta perecibilidad, por tanto se exporta como producto procesado, en presentaciones de jugo, concentrado y en forma de pulpa congelada o conserva. Para el periodo enero-julio de 2014, los principales destinos para exportación de esta fruta fueron Francia, que participó con el 49% de la demanda, seguido de Panamá (14%), España (11%) y Aruba (4%). (Sierra & Vargas, 2015).

La transformación del lulo es por tanto una alternativa para el desarrollo de productos innovadores que preserven sus propiedades biofuncionales y sensoriales y contribuyan así a aumentar su tiempo de vida útil. Recientemente los componentes bioactivos presentes en frutas y vegetales han recibido gran atención al contribuir al bienestar y prevención de enfermedades relacionadas con el estilo de vida; de hecho, el consumo de frutas y

vegetales se ha asociado con la reducción de riesgo de enfermedades crónicas tales como el cáncer y enfermedad cardiovascular, inflamatorias y neurodegenerativas. Es así, como el desarrollo de productos procesados con valor agregado a partir de frutas y vegetales se considera una opción interesante de “alimentos funcionales”.

1. Capítulo 1. Marco de Referencia

1.1 Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y sus propiedades biofuncionales

El lulo, también conocido como naranjilla, es una fruta nativa de los Andes, cultivada y consumida principalmente en Ecuador, Colombia y Centro América. Es una fruta redonda de cuatro a ocho cm de diámetro y un peso promedio de 80 a 100 g. Su piel está cubierta con vellosidad, la cual se pierde a medida que los frutos maduran. La corteza es de color amarillo intenso, amarillo rojizo o naranja en el estado de madurez de consumo (Mosquera, Rubiano, & Morera, 2006). Aunque la fruta es consumida y procesada algunas veces en temprano estado de madurez, los sólidos solubles totales aumentan con la madurez, lo cual resulta en una pulpa más dulce en estados más tardíos (Gancel *et al.*, 2008).

La estructura interna de la fruta es similar a la de un tomate, la pulpa verde-amarilla (mesocarpio y endocarpio) forma cuatro compartimentos separados por una división membranosa, contiene numerosas semillas (Figura 1).



Figura 1. Fruto de Lulo (*Solanum quitoense* Lam.)

El lulo es una de las frutas tropicales más apetecidas debido a su sabor, aroma y color. En un trabajo realizado recientemente en nuestro grupo de investigación GANAC (Grupo de Aditivos Naturales de Aroma y Color) se identificaron y cuantificaron 16 compuestos activos olfativamente en el aroma de esta fruta; siendo el (Z)-3-hexenal, butanoato de etilo, acetato de 3-sulfanilhexilo y hexanoato de etilo los compuestos impacto del aroma debido a su mayor contribución al aroma de la fruta (Forero *et al.*, 2015). Según Osorio, Duque, & Batista-Viera (2003), los glucósidos aislados de las hojas de lulo cumplen un rol como precursores del aroma ya que ellos producen varios compuestos volátiles con notas sensoriales agradables por acción de enzimas presentes en la fruta. Esos compuestos volátiles que se generan pueden ser importantes respecto al aroma y sabor de la fruta y de productos procesados porque ellos serían liberados durante el procesamiento.

El lulo se clasifica como un fruto ácido debido a que tiene un pH entre 3.1-3.3 y un contenido de ácido de 3.23% expresado como ácido cítrico, dependiendo de su estado de madurez (Arango.,1999; Cerón, Higueta, y Cardona, 2010; Guzmán, De Villaveces y De Clavijo, 1977). La parte comestible representa del 70–90% de la fruta (ICONTEC, 2002).

Un resumen de la composición química del lulo se muestra en la Tabla 1. Es una fuente importante de vitamina C y de minerales (hierro y fosforo). Además, tiene un porcentaje de fibra entre 0,3 y 1,54% y proteína entre 0.1-0.7%. En cuanto a la vitamina C, se han reportado contenidos de 37.5, 47.5 y 95.5 mg/ 100 g para muestras de lulo provenientes de Colombia y Ecuador (Acosta, Pérez, & Vaillant, 2009).

Tabla 1. Composición química de Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) por 100 gramos de parte comestible (peso fresco).

Composición	Contenido	Referencia
Agua	92.2 g	(Arango <i>et al.</i> , 1999)
Calorías	24 Kcal	
Proteínas	0.6 g	
Grasa	0.0001g	
Carbohidratos disponibles	5.7 g	(Acosta <i>et al.</i> , 2009)
Fibra dietaria total	0.53 g	(Guzmán <i>et al.</i> , 1977)
Azúcares	2.4g	
Sacarosa	1.08	
Glucosa	0.52	
Fructosa	0.75	
Cenizas	0.7g	(Arango <i>et al.</i> , 1999)
Hierro	1.19mg	(FAO, 2006)
Fósforo	13.5mg	
Vitamina C	37.5-95.5 mg	(Acosta <i>et al.</i> , 2009)

Se han realizado varias investigaciones determinando el contenido fenólico y capacidad antioxidante del lulo, encontrando que esta fruta presenta alto contenido de este tipo de compuestos (Cerón *et al.*, 2010; Contreras-Calderón *et al.*, 2011). Además es fuente de carotenoides, precursores de la vitamina A con un mayor contenido en el fruto fresco entero comparado con el encontrado en la pulpa fresca. Entre los carotenoides mayoritarios reportados en el lulo están: el β -caroteno, la luteína y la zeaxantina (Tabla 2); los cuales están entre los carotenoides comúnmente encontrados en la dieta, y son de interés debido a sus posibles beneficios en la salud. Estos compuestos han sido asociados al tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares y oftalmológicas (Acosta *et al.*, 2009; Murillo, Meléndez-Martínez, & Portugal, 2010). Zapata, Piedrahita & Benjamín (2014) determinaron la capacidad para atrapar radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia, determinando que el lulo se encuentra entre las frutas que contienen entre 100-500 mg ácido gálico /100 g de muestra liofilizada, cercano a los contenidos exhibidos por la manzana roja, la ciruela morada, el tomate de árbol y el açaí.

Tabla 2. Algunos metabolitos secundarios encontrados en lulo (*Solanum quitoense* Lam.).

Metabolito	Concentración	Referencia
Carotenoides	33,3±0,6 µg/g fruto fresco 7,2±0,3 µg/g pulpa fresca	(Acosta <i>et al.</i> , 2009)
	0.5 mg β -caroteno/100 g fruto fresco 0.8 mg β -caroteno/100 g pulpa fresca	(Murillo <i>et al.</i> , 2010)
β-caroteno	58,4%,	(Acosta <i>et al.</i> , 2009)
luteína	32,2%	
zeaxantina	3,2%	
Fenoles Totales	48- 91mg GAE/100g fruta fresca	(Acosta <i>et al.</i> , 2009; Contreras <i>et al.</i> , 2011; Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin., 2008)
Ácido monocateoilquínico	106 mg/100 g de fruta fresca	(Mertz <i>et al.</i> , 2009)
Ácido dicafeoilquínico	5,4 mg/100 g de fruta fresca	

Debido a su contenido de vitamina C y hierro se le atribuyen propiedades tonificantes y para el buen funcionamiento de los riñones. El jugo de lulo disuelve algunas toxinas en el organismo y es recomendado para las personas que sufren gota, ya que disminuye la acumulación de ácido úrico en la sangre, responsable de esta enfermedad (Mosquera Rubiano, & Morera, 2006). Recientemente se identificaron algunos compuestos con propiedades inhibitorias de la enzima ACE involucrada en el proceso de hipertensión (Forero *et al.*, 2016).

1.2 Productos biofuncionales con mezclas de fruta y hortalizas

En los últimos años la demanda de alimentos por parte de los consumidores ha cambiado considerablemente. Hoy en día los alimentos no solo están destinados a proveer los nutrientes necesarios, sino también a prevenir enfermedades y mejorar el bienestar físico y mental.

El concepto de alimento funcional deriva de la observación de que ciertos alimentos o bebidas ejercen un efecto benéfico en la salud, que no es explicado por su contenido nutricional (vitaminas y minerales, entre otros). Los alimentos funcionales pueden mejorar las condiciones generales del cuerpo, (prebióticos y probióticos), disminuir el riesgo de enfermedades (productos que disminuyen los niveles de colesterol y reducen alta presión sanguínea), y podrían ser usados para curar algunas enfermedades (Corbo *et al.*, 2014). En Japón, los alimentos funcionales se etiquetado como FOSHU “Alimentos para usos específicos en salud” y se definen como aquellos alimentos que contienen ingredientes con funciones específicas para la salud y cuyo mensaje o alegación saludable ha sido aprobada acerca de sus efectos fisiológicos en el cuerpo humano, además son de consumo para el mantenimiento y/o promoción de la salud (Durán & Valenzuela, 2010)

Los primeros desarrollos de alimentos funcionales fueron los fortificados con vitaminas o minerales tales como vitamina C, E, ácido fólico, zinc, hierro y calcio. Luego se enfocaron a alimentos fortificados con varios micronutrientes tales como ácidos grasos omega 3, fitosteroles y fibra soluble para promover la buena salud o prevenir enfermedades como cáncer. Recientemente las compañías de alimentos han tomado medidas para desarrollar productos alimenticios que ofrezcan múltiples beneficios para la salud en solo alimento (Corbo *et al.*, 2014).

Entre estos alimentos, las bebidas son un sector representativo en el mercado. Estados Unidos es el país que encabeza las ventas de bebidas funcionales y ha proyectado un crecimiento del 52% entre 2011 y 2016 (Camara de Comercio, 2016). Las bebidas funcionales ofrecen beneficios adicionales al consumidor, además de su función primaria de hidratación (nivel adecuado de los fluidos del cuerpo). Estos beneficios se enfocan a mantener la buena salud y a la prevención de enfermedades (Corbo *et al.*, 2014).

Actualmente, el mercado de las bebidas se está inclinando más hacia las tendencias en desarrollo de sabor de frutas exóticas, frutas tropicales y combinaciones de fruta y vegetales, debido al crecimiento en el número de consumidores quienes se están volviendo más conscientes acerca de la salud. Por tanto, las compañías de bebidas se están dirigiendo a esos productos que reflejan alto valor nutricional y más beneficios para la salud (Boye, 2015; Corbo et al., 2014).

La industria Colombiana de bebidas se caracteriza por su oferta dividida en dos pilares fuertes: variedad sensorial y función medicinal (Figura 2). Hay una tendencia hacia nuevos sabores y texturas, y al desarrollo de productos enfocados a problemáticas muy específicas como salud ósea, desarrollo mental de los niños y salud del corazón, entre otras.

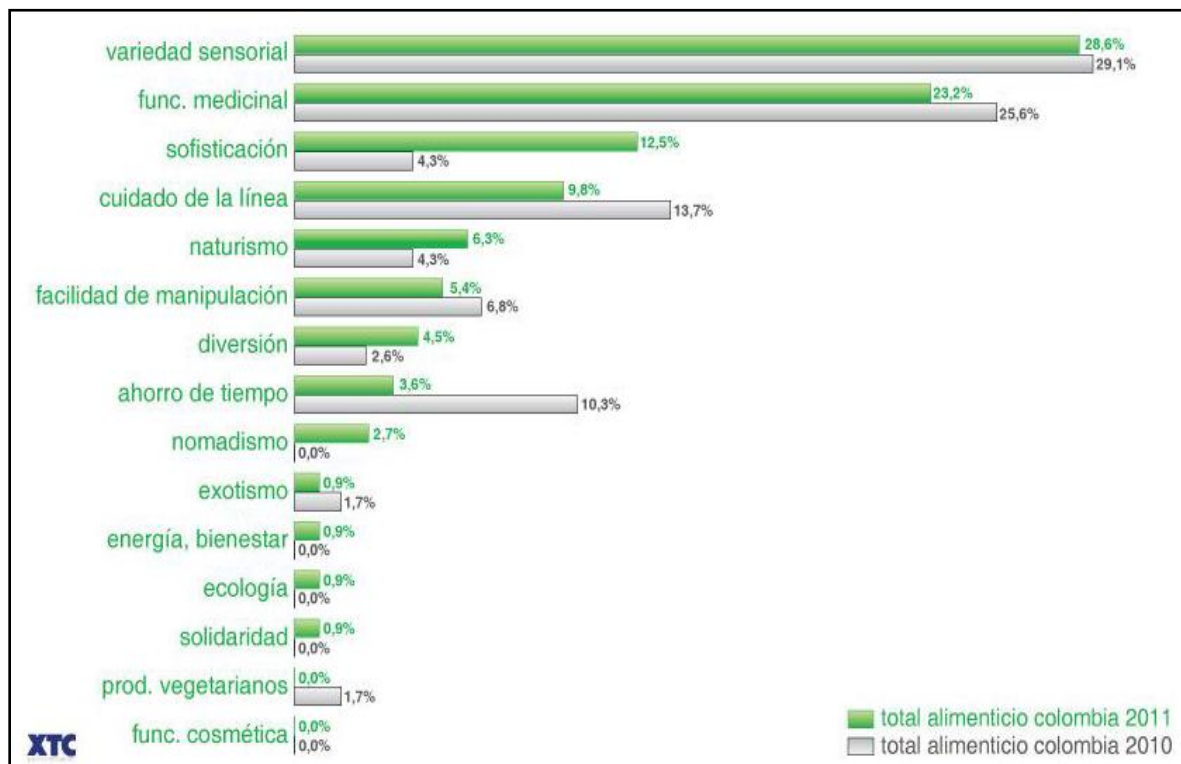


Figura 2. Tendencias de la innovación en alimentos en Colombia (Camara de Comercio, 2016).

1.3 Microencapsulación mediante *spray drying*

El *spray drying* o secado por aspersión con aire caliente es una de las técnicas de microencapsulación más antiguas y es el método más utilizado en la industria de alimentos por ser el más económico. Además, proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta. Es una técnica flexible, continua y económica que produce partículas esféricas de menos de aproximadamente 40 μm , lo cual es deseable desde el punto de vista de las características sensoriales y de textura del producto final (Perez & Gaonkar, 2014).

Las principales ventajas de la microencapsulación son:

- Proteger el material activo de la degradación producida por el medio ambiente (calor, aire, luz, humedad).
- Preservar la estabilidad de los compuestos bioactivos durante el procesamiento y almacenamiento y prevenir interacciones indeseables con la matriz alimentaria.
- Liberación completa y controlada del compuesto activo.
- Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer más fácil su manejo (un material líquido convertido a polvo) y la higroscopicidad puede ser reducida.
- El contenido puede ser distribuido más uniformemente en una muestra.
- El sabor y olor del material puede ser enmascarado.
- Estabilización de principios activos inestables.
- Transformación de líquidos en sólidos (Desai & Park, 2005)

1.3.1 Proceso de *spray drying*

El diseño del proceso de *spray drying* incluye el establecimiento de las condiciones de operación. Entre los parámetros más importantes a controlar durante el secado por aspersión se encuentran: las temperaturas de entrada y salida del aire de secado, el flujo de alimentación del producto a secar, el tiempo de residencia y el acondicionamiento de la materia prima y la viscosidad. Estas condiciones influyen en las propiedades y calidad del producto final.

El proceso de microencapsulación por *spray drying* implica tres etapas: preparación de la dispersión o emulsión, homogenización y atomización (Desai & Park, 2005). Este proceso consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido, ya sea como solución o como dispersión, formándose al final finas gotas sobre una corriente de aire caliente, cuando las pequeñas gotas del líquido toman contacto con el gas, y a una mayor temperatura, se produce una rápida evaporación del solvente formándose una fina película del material de recubrimiento rodeando al material activo (Gharsallaoui *et al.*, 2007). En la Figura 3 se observa el equipo usado para microencapsulación por *spray drying*.

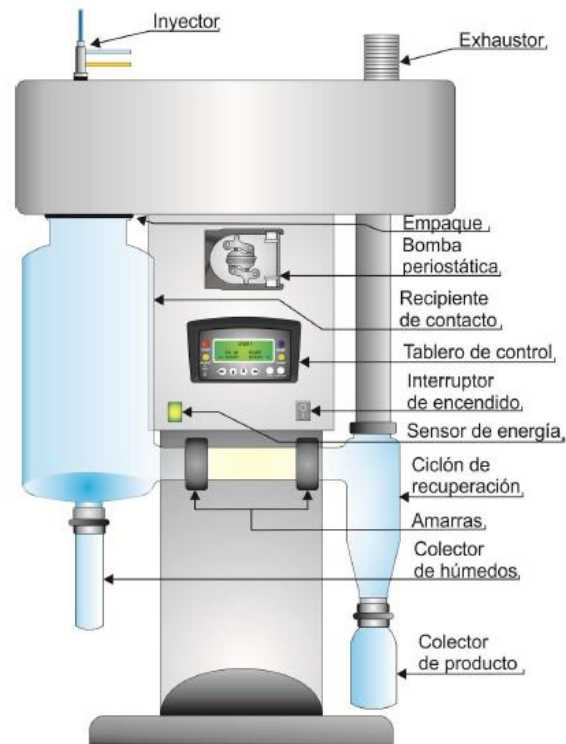


Figura 3. Equipo de *spray drying*. Modelo Labplant SD-06 (Revelo, 2014).

En este método el componente o sustancia a encapsular es rodeado por una matriz protectora, normalmente un polímero. Entre los materiales más usados como agentes encapsulantes en alimentos, se encuentran los carbohidratos, gomas, lípidos, proteínas y materiales inorgánicos. Entre los carbohidratos se encuentran el almidón y sus derivados, amilosa, amilopectina, dextrinas, maltodextrinas, polidextrosa y celulosa, entre otros.

Las maltodextrinas son utilizadas principalmente en materiales que presentan dificultades para su deshidratación, tales como jugo de frutas, condimentos y endulzantes ya que reducen los problemas de adherencia y aglomeración durante el almacenamiento, mejorando así la estabilidad del producto (Parra, 2011). Estos polímeros son incoloros, inodoros y de baja viscosidad a altas concentraciones; son solubles en agua y protegen el ingrediente encapsulado de la oxidación; tienen baja viscosidad y están disponibles en diferentes pesos moleculares lo que proporciona diferentes densidades de pared alrededor de los materiales sensibles. Son polímeros de glucosa obtenidos a partir del almidón mediante procesos enzimáticos. Consisten en unidades de β -D-glucosa unidas principalmente por enlaces glicosídicos (1-4) y generalmente están clasificadas de acuerdo con su equivalente de dextrosa (DE), el cual determina su capacidad de reducción que está inversamente relacionado con su peso molecular medio.

1.3.2 *Spray drying* en frutas y vegetales

Los hábitos de consumo cambian continuamente y la microencapsulación de ingredientes alimentarios se ha convertido en una herramienta para proveer soluciones a la demanda de los consumidores de ingredientes más prácticos, nutritivos, seguros, naturales y que provean energía. Como resultado la microencapsulación se ha convertido en una tecnología versátil e indispensable con aplicación en alimentos y bebidas, que va desde la salud, bienestar, creación de sabor, a los alimentos interactivos (cambio de color y sabor, efectos de enfriamiento y calentamiento, efervescencia) y empaques interactivos (películas comestibles con sabor, el cual se libera tan pronto como la película comienza a disolverse después del contacto con la saliva), y seguridad alimentaria (Figura 4) (Perez & Gaonkar, 2014).

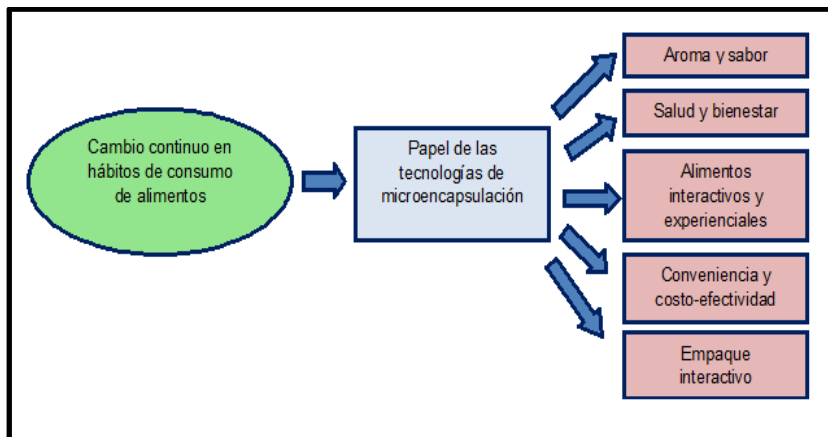


Figura 4. Innovación en microencapsulación de alimentos. Adaptado de (Perez & Gaonkar, 2014).

Los polvos producidos a partir de vegetales son productos estables, fáciles de manipular (peso, volumen, empaque, transporte), se reconstituyen rápidamente formando productos con propiedades similares a las de los jugos originales. Estos productos son usados principalmente como complementos alimenticios y tienen larga vida de almacenamiento a temperaturas normales (Gabas *et al.*, 2009). Su estado físico permite una fácil dosificación al usarlos como saborizantes y colorantes.

Además, las microcápsulas ayudan a que los materiales alimenticios empleados resistan las condiciones de procesamiento y empaquetado mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos (Sobel, Gundlach, & Su, 2014).

Se han elaborado microencapsulados a partir de un gran número de frutas y verduras, evaluando las condiciones de proceso, los agentes de secado, las características y propiedades de reconstitución de los polvos obtenidos. En cuanto a vegetales, Valenzuela *et al.* (1995) obtuvieron un sólido, por medio de *spray drying*, a partir de jugo de vegetales entre ellos, tomate, zanahoria, pepino, lechuga, apio, perejil, espinaca y betabel. Este sólido presentó una humedad del 1.4%, fue fácilmente reconstituido, presentando características similares al jugo original.

Candelas-Cadillo *et al.* (2005) evaluaron el efecto de las condiciones de proceso por *spray drying* del jugo de tomate de mesa con maltodextrina, con respecto a la humedad, color, cambios en la concentración de licopeno. El mejor tratamiento empleó una temperatura de 180°C y 100% de maltodextrina, con el cual el sólido presentó las mejores propiedades de

color y humedad y mayor estabilidad del licopeno. También se han obtenido otros encapsulados a partir del jugo de cebada verde y maltodextrina, evaluando las condiciones del secado por aspersión, el contenido de humedad, color, minerales, proteínas y propiedades de hidratación entre otros, del sólido obtenido (García *et al.*, 2004).

En el grupo de investigación GANAC (Grupo de Aditivos Naturales de Aroma y Color) se han desarrollado varios encapsulados enriquecidos en aroma, sabor y propiedades biofuncionales a partir de frutas tropicales como corozo (Osorio *et al.*, 2010), guayaba (Osorio, Forero, & Carriazo, 2011), mora (Villacrez, Carriazo, & Osorio, 2014), y tamarillo (Revelo, & Osorio, 2014), entre otros.

En lulo se obtuvieron productos deshidratados en presencia de maltodextrina por cuatro métodos, incluyendo *spray drying* (Forero, Carriazo, & Osorio, 2016). Se obtuvieron sólidos con baja actividad de agua (0.37 ± 0.02) y contenido de humedad ($3.3 \pm 0.1\%$), lo cual es deseable para aumentar su vida útil y minimizar su deterioro. Las propiedades sensoriales del sólido obtenido por *spray drying* fueron similares a las de la fruta fresca. Además, al realizar la caracterización morfológica, se observó que las partículas obtenidas presentaron forma redondeada mientras que los sólidos obtenidos por los otros métodos presentaron forma y tamaño irregular.

Adicionalmente se identificaron los compuestos volátiles activos olfativamente en el lulo fresco, y se compararon con aquellos presentes en los sólidos por los cuatro métodos de secado. Así, se encontró que después de los procesos de secado hay retención de esteres y aldehídos, los cuales son compuestos característicos del aroma del lulo. Es así como se comprobó que el *spray drying* permite preservar aroma y otros compuestos sensibles, ya que con otros métodos de secado hay pérdida de volátiles, lo cual limita su aplicación en la industria de alimentos (Forero *et al.*, 2015)

En otro trabajo, se evaluaron las propiedades termodinámicas de sorción de agua de la pulpa de lulo en polvo con encapsulantes, utilizando maltodextrina y goma arábiga (Gabas *et al.*, 2009). Por otra parte, Igual *et al.* (2014) investigaron la optimización de las condiciones de secado para pulpa de lulo, utilizando goma arábiga y maltodextrina como agentes encapsulantes los cuales influyeron más que la temperatura de entrada, mejorando el rendimiento y reduciendo la higroscopicidad y el valor de actividad de agua

del producto obtenido. Además, contribuyeron a la retención de sus propiedades nutritivas y funcionales, encontrándose un incremento en la vitamina C, contenido total de fenoles y flavonoides, y en la capacidad antioxidante.

1.4 Actividad antioxidante en frutas y hortalizas

La mayoría de las enfermedades referidas como crónicas están ligadas al proceso de envejecimiento que ocurre en organismos aerobios. La teoría del daño oxidativo sugiere que la mitocondria produce especies reactivas de oxígeno (ROS) o radicales libres como subproductos en la cadena de fosforilación del ATP. Los radicales libres también se producen por reacciones enzimáticas tales como la NADPH oxidasa en los fagocitos para destruir microbios invasores, o la xantina oxidasa para la formación de ácido úrico. Además, fuentes externas como la polución, humo del cigarrillo y la luz solar causan producción de radicales libres los cuales son incorporados por organismos y células.

Los radicales libres son altamente reactivos hacia otras moléculas robando electrones con el fin de volver a estados estables. La molécula a la cual el radical libre roba el electrón se convierte en otro radical libre, resultando en un proceso de auto perturbación. Por tanto, la excesiva producción de radicales libres causa daño en lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN; las membranas expuestas a radicales libres pierden su habilidad para transportar nutrientes adecuadamente; las lipoproteínas cambian a formas oxidadas; y el ADN dañado tiene el potencial para acumular mutaciones consecutivas, que pueden conducir a la carcinogénesis (Blasa *et al.*, 2010)

En este sentido, la dieta juega un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal, los cuales presentan efectos sinérgicos o cooperativos que pueden mejorar la defensa antioxidante directamente o indirectamente activando y potenciando los sistemas de detoxificación y antioxidantes endógenos (Liu, 2004).

Las frutas y hortalizas poseen distintos compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, que incluyen a las vitaminas C y E, polifenoles, carotenoides y terpenoides entre otros. Estos compuestos se han relacionado con la prevención de distintos procesos

crónicos, como la enfermedad cardiovascular, algunos desórdenes neurológicos y ciertos procesos inflamatorios.

La función principal de los antioxidantes es retardar la oxidación de otras moléculas al inhibir la iniciación o propagación de reacciones de oxidación en cadena, pudiendo reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano.

Los ensayos para determinar la actividad antioxidante *in vitro* miden la capacidad de atrapar radicales libres o actividad antiradicalaria. Estos ensayos pueden dividirse en dos categorías:

- Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno que monitorean una reacción cinética competitiva, generalmente están compuestos de un generador de radical libre sintético, una molécula oxidable y un antioxidante; por ejemplo, capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) y parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP).
- Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones que involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto final de reacción, por ejemplo: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS), difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) o poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP), entre otros (Huang, Boxin, & Prior, 2005).

1.5 Actividad antihipertensiva

La hipertensión arterial es la elevación patológica de la presión que ejerce la sangre bombeada por el corazón sobre los vasos sanguíneos. Se define como una presión sistólica de sangre por encima de 140 mm Hg y / o una presión diastólica por encima de 90 mm Hg. La hipertensión afecta más del 30% de la población adulta en la mayoría de países. Al no ser tratada puede conducir a enfermedad coronaria, disfunción del riñón, discapacidad y muerte (Chen et al., 2009).

Una de las vías para reducir la presión sanguínea es la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE). La ACE es una enzima que es una dicarboxipeptidasa que contiene Zn^{2+} en su molécula y cuyo centro activo necesita altas concentraciones de

cloruros para activarse (Hong et al., 2008). Esta enzima tiene importancia en la regulación de la presión sanguínea ya que actúa en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). Este sistema controla el sistema cardiovascular, los riñones y ganglios suprarrenales a través de la regulación del equilibrio de líquidos y electrolitos, y la presión arterial (Actis-Goretta *et al.*, 2003; Biswas *et al.*, 2014; Rinayanti *et al.*, 2013).

La renina actúa sobre el angiotensinógeno una alfa globulina que circula por el plasma sanguíneo, dando lugar a la angiotensina I, un deca péptido sin actividad fisiológica. La ACE actúa en el sistema RAS transformando la angiotensina I en angiotensina II (Figura 5), la cual tiene efecto vasoconstrictor, causa el estrechamiento de los vasos sanguíneos y por tanto incremento de la presión sanguínea, también está relacionada con la liberación de aldosterona, (un esteroide que aumenta la tensión arterial, al aumentar el Na⁺ y la retención de agua). Además ejerce su acción sobre el sistema caliceína-cinina, catalizando la degradación de la bradiquinina, un péptido que originalmente disminuye la presión arterial y estimula la musculatura lisa, pero que al ser degradado pierde sus propiedades vasodilatadoras (Li *et al.*, 2004; Schiffrin, 2002).

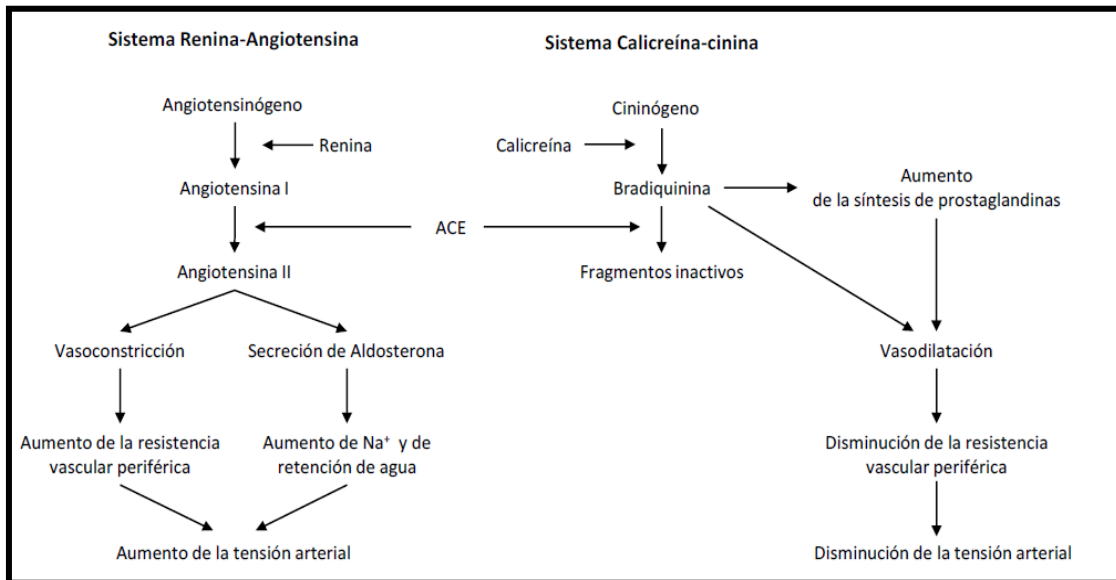


Figura 5. Papel de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en la regulación de la presión sanguínea. (Espejo Carpio, 2013).

La inhibición de la ACE es un tratamiento importante para la presión arterial alta. La administración terapéutica de ciertos inhibidores de ACE se puede asociar también con efectos positivos en la salud más allá de regulación de la presión sanguínea (Schiffirin, 2002). Los mecanismos de acción de los inhibidores de ACE en el sistema cardiovascular no son bien entendidos, pero se ha planteado que además de las propiedades antioxidantes, estos agentes pueden tener múltiples efectos tales como reducción en la presión sanguínea y efectos antiplaquetarios. La hipertensión ha sido tratada con diversos medicamentos sintéticos que inhiben a la enzima ACE, entre los medicamentos más comunes en el mercado se encuentran los β -bloqueadores, los diuréticos y los bloqueadores de los receptores de angiotensina-II, los cuales han sido eficaces y bien tolerados en el tratamiento de la hipertensión. Sin embargo, una de las desventajas de estos medicamentos de origen sintético, es que son caros y además pueden producir ciertas alteraciones secundarias a corto y largo plazo en su uso (Torruco-Uco et al., 2008).

Algunos alimentos contienen compuestos naturales que tienen algunas de las funciones de los medicamentos antes descritos y poseen actividad vasodilatadora. Es por esto que en los últimos años estos alimentos funcionales y nutracéuticos han despertado interés considerable como una potencial terapia alternativa para el tratamiento de la hipertensión, especialmente para pacientes pre-hipertensivos cuya presión arterial es ligeramente o moderadamente alto, pero no lo suficientemente alto para justificar la prescripción de medicamentos para bajar la presión sanguínea (Chen et al., 2009). Se han llevado a cabo estudios que muestran relación entre la reducción en el riesgo de enfermedad cardiovascular y el consumo regular de alimentos ricos en flavonoides. Algunos experimentos realizados *in vitro* demostraron que flavanoles aislados de té y chocolate, podrían inhibir la actividad de ACE (Actis-Goretta, Ottaviani, & Fraga, 2006). También se ha estudiado el efecto de las procianidinas determinando que tienen efecto inhibitorio sobre la enzima convertidora de ACE (Actis-Goretta et al., 2003). Otros compuestos de interés son los péptidos antihipertensivos, ya que muestran actividad por la inhibición de la ACE, la cual está relacionada con la regulación de la presión arterial por la modulación del sistema renina-angiotensina (Torruco-Uco et al., 2008).

1.5.1 Determinación de la actividad antihipertensiva *in vitro*

Los métodos para medir la actividad inhibidora de ACE *in vitro* implican la determinación de la actividad de esta enzima con sustratos sintéticos. Usualmente estos sustratos son di o tripéptidos modificados que permiten la medida de los mismos o de sus productos de hidrólisis, mediante métodos espectrofotométricos, fluorométricos y cromatográficos. Todos los ensayos *in vitro*, usados para determinar la actividad inhibitoria de ACE se basan en el método de Cushman y Cheung (1971); sin embargo, cada autor ha realizado diferentes modificaciones al método. Esos cambios afectan la composición del buffer usado en la reacción, la relación enzima-sustrato y el tiempo de reacción. El método de Cushman y Cheung se fundamenta en la hidrólisis de hipuril-histidil-leucina (HHL) a ácido hipúrico (HA) e histidil-leucina (HL) como productos, al reaccionar con la enzima liberación del (HA) a partir del (HHL) está relacionado directamente con la actividad de la ACE, el descenso en la absorbancia es proporcional a la inhibición ejercida por el inhibidor ensayado. El ácido hipúrico se cuantifica mediante la medida de la absorbancia UV-Vis a $\lambda=228$ nm. (máxima longitud de onda en la que absorbe el ácido hipúrico) (Hernández-Ledesma, Martín-Álvarez, & Pueyo, 2003; Li *et al.*, Le, 2005; Vermeirssen, Van Camp, & Verstraete, 2002).

Forero *et al.* (2016) evaluaron la actividad inhibitoria de ACE, de compuestos amargos presentes en el lulo: N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil)espermidina, N¹,N¹⁰-bis(dihidrocafeoil)espermidina y β -D-glucopiranosido del ácido sinápico. Los análisis *in silico*, mediante docking molecular, demostraron que los compuestos derivados de la espermidina: N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil)espermidina y N¹,N¹⁰-bis(dihidrocafeoil)espermidina son compuestos promisorios para actividad inhibitoria de ACE ya que presentaron fuerte afinidad con el sitio activo de la enzima. Estos resultados fueron confirmados mediante análisis *in vitro* tanto del compuesto N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil)espermidina, como de muestras de lulo fresco y sometido a secado. La pulpa de la fruta exhibió una significativa actividad inhibitoria de ACE, mientras que la fruta seca, específicamente la muestra sometida a secado por aspersión, presentó una actividad inhibitoria más alta con respecto a la fruta secada por liofilización.

1.5.2 Estudios sobre la actividad antihipertensiva de vegetales

Los derivados de proteínas son el mayor grupo de compuestos investigados como potenciales inhibidores de ACE, por ejemplo, péptidos derivados de animales, plantas y microorganismos. Los metabolitos secundarios producidos por las plantas también son otro grupo de compuestos que han sido identificados como potenciales inhibidores de ACE, entre estos están los terpenoides y compuestos fenólicos incluyendo flavonoides, taninos hidrolizables, xantonas, procianidinas, derivados del ácido cafeoilquinico. Es posible que el consumo de esos componentes bioactivos pueda reducir más de un factor de riesgo de la enfermedad cardiovascular tales como hiperactividad plaquetaria e hipertensión.

El extracto de tomate rico en licopeno ha mostrado que reduce la presión sanguínea en humanos y su efecto se asoció con su alto contenido de antioxidantes (Biswas et al., 2014). Además, se ha estudiado el efecto del extracto acuoso de tomate en la inhibición de la enzima ACE en suero sanguíneo mediante el ensayo REA (radioenzimático) encontrando que el extracto de tomate exhibe habilidad para inhibir la actividad de la enzima ACE además de tener efecto en la actividad antiplaquetaria.

Los polifenoles inhiben y regulan la expresión de ACE y la renina. Estos se han asociado con la formación de óxido nítrico conduciendo a vasodilatación y reducción de la presión sanguínea.

Se han realizado estudios sobre el papel de los flavonoides como agentes antioxidantes aunque no hay explicación clara de la relación de estos compuestos con la regulación de la presión arterial. Actis-Goretta *et al.* (2003), determinaron que los flavanoles y procianidinas tienen efecto inhibitorio de la actividad de la enzima ACE compitiendo con el sustrato por los sitios activos de la enzima. Además mostraron que los inhibidores de ACE pueden modular las defensas antioxidantes y regular la producción de óxido nítrico mitocondrial (Actis-Goretta et al., 2003,2006)

La espinaca también ha sido estudiada en cuanto a su contenido de nitratos, los cuales pueden proteger contra la enfermedad cardiovascular al aumentar la formación del óxido nítrico a través de distintas vías. En un estudio realizado con hombres y mujeres consumiendo espinaca se comprobó que la ingesta de nitratos puede contribuir con la reducción en el riesgo de la enfermedad cardiovascular al mejorar la función endotelial y reducir la presión arterial (Bondonno et al., 2012).

Con relación a los péptidos inhibidores de la ACE estos han sido identificados en varias fuentes, incluyendo la espinaca y el brócoli. Yang *et al.* (2003) descubrieron en espinaca, péptidos formados a partir de la proteína Rubisco (ribulosa bifosfato carboxilasa / oxigenasa), que cataliza el paso primario en la fijación de CO₂ en la fotosíntesis). Estos péptidos inhibieron la ACE y su efecto en ratas dependió de las dosis inyectadas. Tres de los péptidos aislados bajaron la presión arterial después de su administración oral a ratas hipertensas. En un estudio posterior con Rubisco, se obtuvieron extractos de la proteína y los productos de digestión de esta proteína fueron usados para determinar la actividad inhibitoria de ACE. También se determinaron las propiedades antihipertensivas de esos productos y de la proteína no digerida, a través de la administración oral en ratas hipertensas, determinando que la proteína de las hojas con alto contenido de Rubisco tiene potencial para ser usada en la prevención o tratamiento de la hipertensión pero debe ser hidrolizada con pepsina antes de ser consumida (Yang *et al.*, 2004).

En brócoli, (*Brassica oleracea Itálica*) se examinó la actividad inhibitoria en ACE, aislando la sustancia inhibitoria e identificando un nuevo inhibidor, el tripéptido con la secuencia Tirosina-Prolina-Lisina. Adicionalmente se estudió la actividad inhibitoria en extractos acuosos y con solvente, encontrando que la extracción en agua fue el mejor método, ya que se obtuvo una actividad inhibitoria del 76.9% (Lee *et al.*, 2006).

2. Capítulo 2. Justificación

La tendencia actual en alimentación no solo se basa en la composición nutricional de los alimentos sino también en el aprovechamiento de sus propiedades, dadas por la presencia de compuestos bioactivos. En el mercado se están buscando productos que tengan influencia en la salud al mejorar el funcionamiento del cuerpo, prevenir enfermedades y que sean más naturales al ser mínimamente procesados.

La demanda de nuevos productos con innovación en sabores y con beneficios en la salud ha aumentado, encontrándose a nivel internacional gran aceptación en productos que mezclan frutas y hortalizas, ya que aunque los vegetales contienen valiosos componentes nutricionales que varían según la especie, en un solo vegetal no se pueden encontrar todos los nutrientes requeridos, por tanto estas mezclas, permiten que los nutrientes actúen juntos para que un producto sea funcional.

En el marco de la Red Nacional para la Bioprospección de Frutas Tropicales (RIFRUTBIO); se propuso como objetivo el desarrollo de productos con valor agregado a partir de frutas tropicales que contribuyeran al fortalecimiento de la industria alimentaria y de Fitoterapéuticos, entre otros. Teniendo en cuenta que el lulo (*Solanum quitoense* Lam) es una fruta promisorio, de alta producción en el país, con características sensoriales agradables y que estudios previos mostraron potencial actividad inhibitoria de la enzima ACE (Forero *et al.*, 2016), se planteó el presente trabajo como continuación del anterior “Estudio químico de las propiedades sensoriales (aroma y sabor) del lulo (*Solanum quitoense* L.) fresco y procesado” puesto que en dicho trabajo se concluyó que los sólidos con mejores características sensoriales y que recordaban la fruta fresca fueron los obtenidos por *spray drying*, además presentaron los valores más altos de actividad antioxidante convirtiéndose así en productos promisorios para uso en la industria alimentaria. A partir de estos resultados, en la presente investigación se propuso el

desarrollo de una bebida biofuncional de lulo. Así, se pensó en el diseño de un producto que contenga lulo y algunos vegetales con reconocida actividad antihipertensiva, para potenciar las propiedades biofuncionales del lulo, sin deteriorar sus características sensoriales.

3. Capítulo 3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Contribuir al aprovechamiento integral del lulo (*Solanum quitoense Lam.*) con el desarrollo de productos con valor agregado para la industria de alimentos.

3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar microencapsulados a partir de lulo y determinar su actividad antioxidante y antihipertensiva *in vitro*.
- Evaluar las propiedades sensoriales (aroma, color, sabor) de los sólidos obtenidos.
- Incorporar los sólidos obtenidos en bebidas y determinar sus propiedades biofuncionales y sensoriales.

4. Capítulo 4. Materiales y Métodos

4.1 Materiales

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fue adquirido en supermercados locales en la ciudad de Bogotá. Se utilizaron frutos de categoría extra, con coloración homogénea (color 5) según la Tabla de color encontrada en la Norma Técnica Colombiana NTC 5093 (ICONTEC, 2002).

Las hortalizas utilizadas, brócoli (*Brassica Oleracea itálica*), tomate (*Lycopersicum esculentum*), y espinaca baby (*Spinacia oleracea L.*), se adquirieron en mercados locales de Bogotá. Se utilizaron hortalizas de primera calidad. Como agente encapsulante se usó maltodextrina DE 19-20.

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterización del lulo y obtención de las mezclas de lulo y vegetales.

La caracterización fisicoquímica de la fruta se realizó mediante la determinación del pH, grados °Brix y acidez titulable. El pH se determinó por método potenciométrico, el contenido de sólidos solubles por método refractométrico, expresando los resultados en grados °Brix, la acidez titulable fue determinada por titulación potenciométrica y expresada en porcentaje de ácido cítrico.

La pulpa de lulo fue obtenida mediante la homogenización de la fruta sin cáscara, en una licuadora, las semillas fueron removidas usando un tamiz. Para la obtención de los homogenizados de las hortalizas (brócoli, tomate y espinaca), se utilizó un extractor de jugo Modelo EJ-1000 B (VEEDEN, China). La pulpa de lulo se mezcló con los homogenizados de cada una de las hortalizas en tres proporciones distintas, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Descripción de las muestras para la obtención de los sólidos microencapsulados

Nº Ensayo	Muestra	Proporción (p/p)	Abreviatura
1	Lulo		L
2		2:1	LT2:1
3	Lulo-Tomate	5:1	LT5:1
4		10:1	LT10:1
5		2:1	LB2:1
6	Lulo- Brócoli	5:1	LB5:1
7		10:1	LB10:1
8		2:1	LE2:1
9	Lulo- Espinaca	5:1	LE5:1
10		10:1	LE10:1

4.2.2 Microencapsulación por *spray drying*

El proceso de microencapsulación se realizó en el equipo secador SD-06 (Labplant, Reino Unido). Como agente encapsulante se usó maltodextrina, siguiendo las condiciones reportadas por (Forero *et al.*, 2015). La mezcla de alimentación (fruta y vegetal) - maltodextrina en proporción 2:1), se mantuvo con agitación constante a temperatura ambiente (18 °C) y se alimentó al sistema a un flujo constante de 485 mL/h. El flujo de aire se mantuvo a 100 m³/h, la presión del compresor de aire a 4 bar, las temperaturas de entrada y salida fueron de 120 ± 2 °C y 65 ± 5 °C respectivamente. Se empleó una boquilla de 2.0 mm de diámetro interno.

4.2.3 Caracterización fisicoquímica de los sólidos

Determinación de la actividad de agua

La medición de la actividad de agua se realizó mediante el lector portátil de actividad de agua HygroPalm AW1 Rotronic (Rotronic Instruments, Huntington, NY) a 20° C usando 1 g del microencapsulado. La medición se realizó por triplicado.

Análisis instrumental del color

La medida de color en las microcápsulas se realizó con un espectrofotómetro MiniScan EZ (HunterLab®). Los resultados se expresaron en términos de valores de L^* , a^* y b^* , donde L denota la luminosidad (va desde 0, negro, a 100, blanco), a^* (que toma valores positivos para los colores rojizos y los valores negativos para los verdosos) y b^* (positivo para los colores amarillentos y negativo para los azulados), también se definieron los parámetros de color h_{ab} (ángulo de tono) y C^*_{ab} (croma), los cuales se calcularon de acuerdo a CIE (2004), mediante las siguientes ecuaciones (1 y 2) (Meléndez-Martínez, Vicario, & Heredia, 2003).

$$C^*_{ab} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

$$h_{ab} = \arctan (b^*/a^*) \quad (2)$$

Caracterización morfológica de las microcápsulas

La morfología se evaluó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras de microencapsulado se fijaron sobre cinta de carbono y las muestras fueron recubiertas con oro mediante un metalizador Q150R ES (Quorum) a continuación, las muestras se examinaron con un microscopio electrónico de barrido, QUANTA 200 (FEI, USA), operando a 30.0 kV. La distribución del tamaño de partícula se determinó midiendo el diámetro de 300 partículas localizadas en un área determinada, en las imágenes obtenidas por SEM a una magnitud de 2000x. Se utilizó el programa de análisis de imagen ImageJ (1.49v) ajustando la escala mediante una sección de longitud conocida marcada durante la toma de imágenes.

Determinación de fenoles totales

El contenido fenólico total de los microencapsulados se determinó por el método Folin-Ciocalteu. Las muestras se prepararon según la metodología de Fujita *et al.* (2015). Se usó ácido gálico como estándar, siguiendo la metodología descrita por Singleton & Rossi (1965), con algunas modificaciones, leyendo la absorbancia de las muestras a $\lambda=760$ nm. Cada determinación se realizó por triplicado y la cantidad de fenoles totales se expresó como mg de ácido gálico/g de muestra.

Determinación de carotenoides totales

El contenido de carotenoides totales se determinó por espectrofotometría UV-Vis, midiendo la absorbancia a $\lambda=450$ nm (Scott, 2001). Los carotenoides se extrajeron siguiendo la metodología de da Costa *et al.* (2013), con algunas modificaciones. Se realizó una curva de calibración usando β -caroteno (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) como estándar y se prepararon las siguientes concentraciones 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 $\mu\text{g/mL}$, la absorbancia se ajustó en el intervalo entre 0.2 y 0.7. Los análisis se realizaron por triplicado y el contenido de carotenoides totales se reportó como μg de β -caroteno /g de muestra.

4.2.4 Determinación de las propiedades biofuncionales de los sólidos.

Actividad antioxidante

Para realizar el ensayo de actividad antioxidante las muestras se prepararon según la metodología de Fujita *et al.* (2015). La actividad antioxidante de los microencapsulados se evaluó utilizando el método ABTS descrito por Re *et al.* (1999). El radical ABTS^{••} se generó por reacción entre una solución acuosa de ABTS^{••} (7mM) con persulfato de potasio (2,45 mM), ésta solución se diluyó en etanol absoluto hasta obtener una absorbancia entre 0,70 \pm 0,2 a 734 nm. Como estándar de calibración se utilizaron soluciones de Trolox 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 y 2,5 mM. La actividad antioxidante se determinó por adición de 1 mL de la solución de ABTS^{••} a 10 μL de la solución del estándar o de la muestra a evaluar y posterior medición de la absorbancia a $\lambda=734$ nm, después de 6 minutos de reacción. Los análisis se realizaron por triplicado y la actividad antioxidante se expresó como TEAC (Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity).

Determinación actividad antihipertensiva

La actividad antihipertensiva *in vitro* se determinó según la metodología de Hernández-Ledesma *et al.* (2003). A 110 μL de la solución de sustrato, constituida por HHL (hipuril-histidil-leucina) disuelto en un buffer de pH 8.3 con NaCl 0.3 M, se añadieron 26 μL de ACE (disuelta en glicerol al 50%) y 14 μL de agua destilada. Esta solución se incubó a 37 °C. La enzima se inactivó adicionando 110 μL de HCl 1 N. El ácido hipúrico formado en el proceso enzimático se extrajo con 1 mL de acetato de etilo. Se tomaron 750 μL de la fase

orgánica y se llevaron a secado a 95 °C por 10 min. El residuo se disolvió en 1 mL de agua destilada y se midió la absorbancia a 228 nm. Se preparó la reacción del blanco en la misma forma antes indicada, cambiando el orden de adición de los reactivos (HCl se adicionó antes de la enzima).

El porcentaje de inhibición de ACE se determinó reemplazando los 14 uL de agua por las muestras de los microencapsulados. Los blancos de las muestras se prepararon de la misma forma que el blanco de reacción, reemplazando el volumen de agua por la muestra de microencapsulado. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición de las muestras se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%IACE = 100(A - C)/(A - B) \quad (3)$$

Donde A representa la absorbancia en presencia de ACE, B es la absorbancia del blanco de la reacción y C la absorbancia en presencia de ACE del inhibidor.

En las muestras donde hay sustancias que causan interferencia en el análisis y los blancos mostraron absorbancia mayor al blanco de reacción, el porcentaje de inhibición se calculó según la ecuación 2.

$$\%IACE = 100[(A - B) - (C - D)]/(A - B) \quad (4)$$

Donde D es la absorbancia del blanco de la muestra (Hernández-Ledesma *et al.*, 2003).

4.2.5 Análisis sensorial de los microencapsulados.

Se escogieron cinco de las muestras de microencapsulado, teniendo en cuenta los resultados de fenoles totales, carotenoides y actividad antihipertensiva. El análisis sensorial de los encapsulados fue realizado por un panel constituido por 9 panelistas entrenados (hombres y mujeres entre 25 y 55 años) del laboratorio del departamento de Nutrición y Dietética de la Universidad de Antioquia, quienes evaluaron cinco muestras de encapsulados en cuanto a los atributos de olor y sabor. Los encapsulados fueron disueltos al 3% en agua y los evaluadores ordenaron las muestras en cuanto a olor y sabor a lulo natural, posteriormente se realizó la suma de calificaciones y las comparaciones estadísticas. Para determinar las diferencias significativas entre las sumas de los rangos de las muestras se utilizó la prueba de Friedman. Adicionalmente se realizaron pruebas descriptivas de olor. Las normas de referencia fueron la Guía Técnica Colombiana 165, las Normas Técnicas Colombianas 3501, 3929 y 3930 primera actualización.

4.2.6 Análisis de compuestos volátiles de aroma mediante CG-EM.

Los compuestos volátiles fueron extraídos mediante la técnica HS-MEFS (Headspace-microextracción en fase sólida), para lo cual, 1 g de cada sólido fue disuelto en 10 mL de agua destilada y depositado en un frasco cerrado herméticamente, el cual se dejó durante 30 minutos a 40°C con agitación constante hasta alcanzar el equilibrio entre las fases. Los volátiles liberados fueron absorbidos en una fibra de divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS 75µm, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Terminado este tiempo, la fibra fue desorbida durante 10 min en un cromatógrafo de gases Agilent 6890 (Agilent Technologies Inc. Wilmington, DE, USA) acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973, operado en modo de impacto electrónico (70eV).

El programa de temperatura fue: se mantuvo a 50°C por un minuto, luego la temperatura se incrementó a una velocidad de 5°C/ min hasta 180°C y después a una velocidad de 12°C/min hasta 300°C, por cinco minutos. Se emplearon dos columnas de diferente polaridad, una columna no polar HP-5 (*J&W Scientific, Alemania*; 30 m x 0.25 mm d.i., 0,32 µm) y una columna polar DB-FFAP (*J&W Scientific, Alemania*; 30 m x 0.25 mm d.i., 0,32 µm), la temperatura de detectores e inyectores se mantuvo en 300°C para la columna HP-5 y 250°C para la DB-FFAP y la inyección se realizó en modo splitless (sin división de flujo durante la inyección de la muestra).

Para la identificación de los diferentes compuestos de interés, se calcularon los índices de retención con base en los tiempos de retención de una mezcla de parafinas de referencia (C₁₀-C₂₅) bajo las mismas condiciones cromatográficas. Los índices de retención se calcularon según el método de Kovats. La cantidad relativa de los compuestos se calculó por medio del porcentaje de área del pico correspondiente a cada sustancia respecto a la sumatoria de las áreas de todos los picos del cromatograma (100%) obtenidos por CG-EM.

4.2.7 Formulación de una bebida y Prueba sensorial a consumidores.

El microencapsulado de lulo fue adicionado a leche descremada pasteurizada siguiendo el procedimiento de Lee, Ganesan, & Kwak (2013), en tres concentraciones (3, 5 y 7% p/v), con base en pruebas preliminares, y mezclado con vortex (Vortex genie® 2, Scientific Industries, New York, NY, USA) por 5 minutos. Se realizó una prueba de consumidores para determinar la aceptación de la bebida y se evaluaron sus propiedades biofuncionales (actividad antioxidante y fenoles totales).

La evaluación sensorial se aplicó a las muestras debidamente codificadas, mediante una prueba afectiva, midiendo el nivel de agrado de la bebida a través de una escala hedónica de 7 puntos (Anexo A). Las bebidas fueron evaluadas por 60 panelistas (no entrenados) entre hombres y mujeres.

Para la determinación de la actividad antioxidante y fenoles totales las muestras se prepararon según Lee *et al.* (2013). 1 ml de cada muestra se diluyó con 10 mL de metanol (70%), la suspensión fue centrifugada por 10 minutos. El sobrenadante fue usado para la determinación del contenido de fenoles totales según la metodología de Singleton & Rossi (1965) anteriormente mencionada (numeral 4.2.3) y la actividad antioxidante siguiendo la metodología de Re *et al.* (1999), numeral 4.2.4.

5. Capítulo 5. Resultados y Discusión

5.1 Caracterización fisicoquímica de los sólidos

La actividad de agua mide la disponibilidad de agua libre para reacciones bioquímicas en un sistema alimentario. Por tanto es un índice de importancia para los sólidos obtenidos mediante *spray drying*, ya que puede afectar en gran medida su vida útil (Quek, Chok, & Swedlund, 2007). Un valor alto de A_w indica más agua libre disponible para reacciones bioquímicas y como resultado, un tiempo de vida útil más corto.

Según los resultados obtenidos (Tabla 4), los valores de A_w de los microencapsulados de lulo están entre 0,27 y 0,37, lo cual indica que se obtuvieron sólidos que pueden considerarse microbiológicamente estables, ya que el deterioro causado por microorganismos se inhibe a niveles de actividad de agua por debajo de 0,6 (Quek et al., 2007). Marques *et al.* (2007) afirma que valores de actividad de agua entre 0,20 y 0,40 aseguran la estabilidad de los productos al pardeamiento, reacciones hidrolíticas, oxidación lipídica y actividad enzimática.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales.

Muestra	Aw	Fenoles totales (mg GAE/g)	Carotenoides totales ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}$)
L	0.35 \pm 0.00 ^e	1.38 \pm 0.04 ^d	2.09 \pm 0.02 ^b
LT (2:1)	0.34 \pm 0.00 ^{de}	0.87 \pm 0.06 ^a	3.19 \pm 0.03 ^d
LT (5:1)	0.33 \pm 0.00 ^c	1.02 \pm 0.06 ^{ab}	2.15 \pm 0.02 ^b
LT(10:1)	0.32 \pm 0.00 ^c	1.06 \pm 0.02 ^{abc}	1.76 \pm 0.12 ^a
LB (2:1)	0.37 \pm 0.00 ^f	1.01 \pm 0.06 ^{ab}	3.25 \pm 0.09 ^d
LB (5:1)	0.27 \pm 0.00 ^a	1.03 \pm 0.09 ^{abc}	3.09 \pm 0.08 ^d
LB(10:1)	0.30 \pm 0.00 ^b	1.16 \pm 0.09 ^{bcd}	2.69 \pm 0.09 ^c
LE (2:1)	0.34 \pm 0.00 ^d	1.07 \pm 0.06 ^{abc}	5.68 \pm 0.01 ^f
LE (5:1)	0.34 \pm 0.01 ^d	1.23 \pm 0.08 ^{cd}	3.91 \pm 0.04 ^e
LE(10:1)	0.27 \pm 0.00 ^a	1.24 \pm 0.04 ^{cd}	2.73 \pm 0.03 ^c

Datos expresados como el promedio \pm desviación estándar $n=3$. Letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa estadísticamente con un nivel de confianza del 95 % ($P \leq 0.05$). L = lulo; LT = lulo-tomate; LB = lulo-brócoli; LE = lulo-espinaca. Entre paréntesis está la proporción peso:peso.

El color es uno de los atributos de calidad más importantes ya que refleja el atractivo sensorial y la calidad de los sólidos obtenidos. El color es afectado por muchos parámetros durante el proceso de *spray drying*, tales como la temperatura de entrada y el uso de aditivos (Abadio, Domingues, & Borges, 2004).

De acuerdo a las determinaciones de color, para las mezclas de lulo y tomate (Tabla 5), los valores de las coordenadas de color a^* y b^* se localizaron en el primer cuadrante ($+a^*$, $+b^*$), indicando colores rojizos y amarillentos (Figura 6).

El valor más alto del componente cromático a^* fue de $-2,81 \pm 0,01$ que corresponde al sólido obtenido a partir de lulo y espinaca en proporción 2:1, con una intensidad en color mayor, como se ve en la Figura 7. En cuanto a la mezcla de lulo y brócoli el valor más alto de a^* fue de $-0,18 \pm 0,02$, Siendo la intensidad del color menor que para la mezcla lulo-espinaca.

Tabla 5. Parámetros de color de los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales

Muestra	Parámetros de color				
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C*_{ab}</i>	<i>h_{ab}</i>
L	49.06±0.01 ^f	-0.01±0.01 ^f	13.00±0.01 ^d	13.00±0.01 ^d	89.97±0.02 ^a
LT (2:1)	48.48±0.32 ^e	1.15±0.00 ^g	13.78±0.01 ^e	13.77±0.01 ^e	85.21±0.01 ^a
LT (5:1)	49.01±0.19 ^f	1.13±0.01 ^g	14.56±0.01 ^f	14.56±0.01 ^f	85.55±0.04 ^c
LT(10:1)	47.83±0.13 ^d	1.37±0.01 ^h	15.41±0.03 ^h	15.41±0.01 ^h	84.89±0.01 ^g
LB (2:1)	49.76±0.08 ^g	-0.11±0.00 ^e	11.91±0.01 ^a	11.91±0.01 ^a	84.47±0.00 ^b
LB (5:1)	49.85±0.02 ^g	0.01±0.01 ^f	12.01±0.01 ^d	12.01±0.01 ^b	88.74±0.03 ⁱ
LB(10:1)	48.83±0.08 ^c	-0.18±0.02 ^d	12.53±0.02 ^c	12.53±0.02 ^c	89.21±0.07 ^j
LE (2:1)	43.59±0.05 ^b	-2.81±0.00 ^a	18.04±0.01 ^j	17.82±0.01 ^j	81.14±0.00 ^a
LE (5:1)	44.82±0.32 ^c	-1.56±0.00 ^b	15.98±0.08 ⁱ	15.90±0.08 ⁱ	84.42±0.01 ^e
LE(10:1)	47.18±0.01 ^f	-1.20±0.00 ^c	14.77±0.00 ^g	14.72±0.00 ^g	85.37±0.02 ^d

Datos expresados como el promedio ± desviación estándar *n*=3. Letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa estadísticamente con un nivel de confianza del 95 % (*P* ≤ 0.05). L = lulo; LT = lulo-tomate; LB = lulo-brócoli; LE = lulo-espinaca.

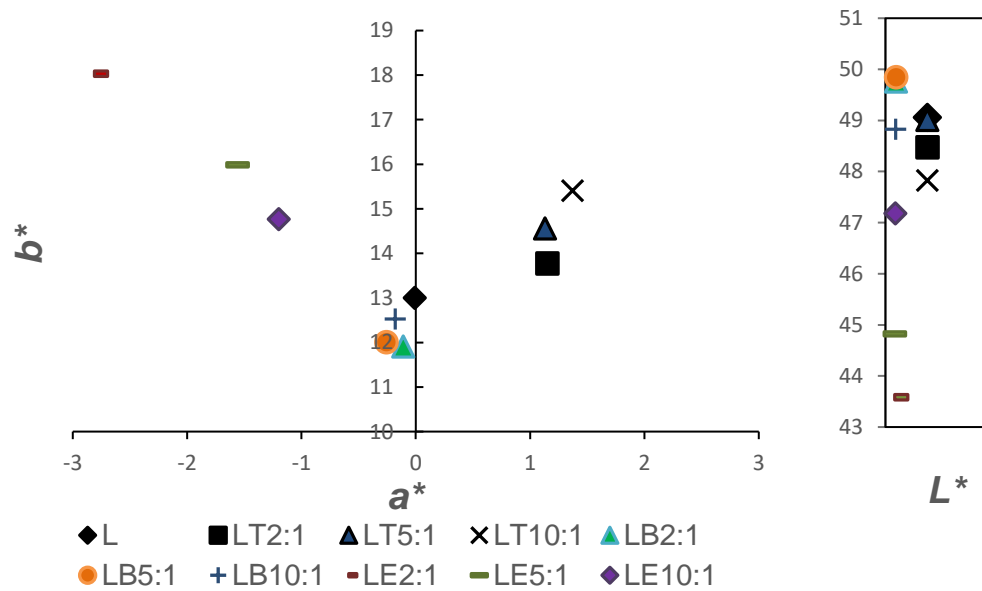


Figura 6. Localización de los parámetros de color de los microencapsulados de lulo y vegetales.

En la Tabla 5 se observa que el valor del cromatismo está entre 11.91 y 17.82. En cada una de las mezclas, este valor aumentó con el incremento en la proporción de la hortaliza,

obteniéndose el valor más alto para el sólido que contenía espinaca en mayor proporción, lo cual puede observarse en la figura 7D en donde se observa mayor intensidad o saturación del color. Hue (ángulo de tono) es una cualidad por la que un color se distingue de otro, este parámetro varió de 81.14 a 89,97. No hay correlación específica con la cantidad de hortaliza.

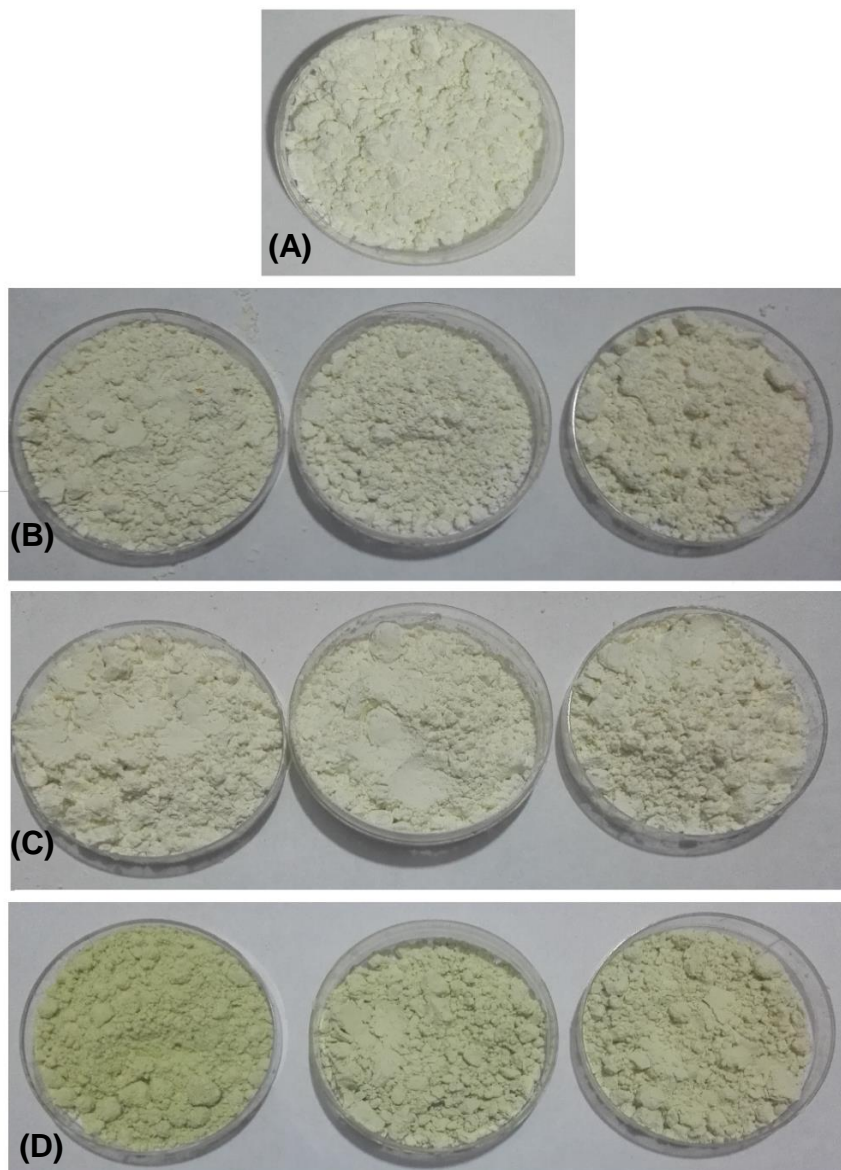


Figura 7. Fotografía de los microencapsulados de lulo y vegetales. (A) L, (B) LT2:1, (C) LT5:1, (D) LT10:1, (E) LB2:1 (F) LBT5:1, (G) LB10:1, (H) LE2:1, (I) LE5:1, (J) LE10:1

En todos los sólidos la morfología fue similar mostrando que la técnica de *spray drying* resultó efectiva en la formación de microcápsulas de forma esférica que no presentaron aglomeración, lo cual indica propiedades de flujo satisfactorias. Las capsulas presentaron en su mayoría tamaños entre 1 y 10 μm (Figura 8). En las micrografías (Figura 8), se observan capsulas achatadas; esta morfología se debe a la formación efectiva de microcápsulas (con posible material activo confinado en ellas) de paredes muy delgadas, mecánicamente muy flexibles (Villacrez *et al.*, 2014). Así mismo, esta morfología se asocia a los mecanismos de secado, atomización y solidificación involucrados en el proceso de *spray drying* (Rosenberg, Kopelman, & Talmon, 1985). Durante el proceso de *spray drying*, un enfriamiento rápido genera esta rugosidad debido a la contracción del material de pared especialmente a altas velocidades de secado. Este fenómeno también se ha asociado con materiales de pared con alta proporción de azúcares (Xie *et al.*, 2010).

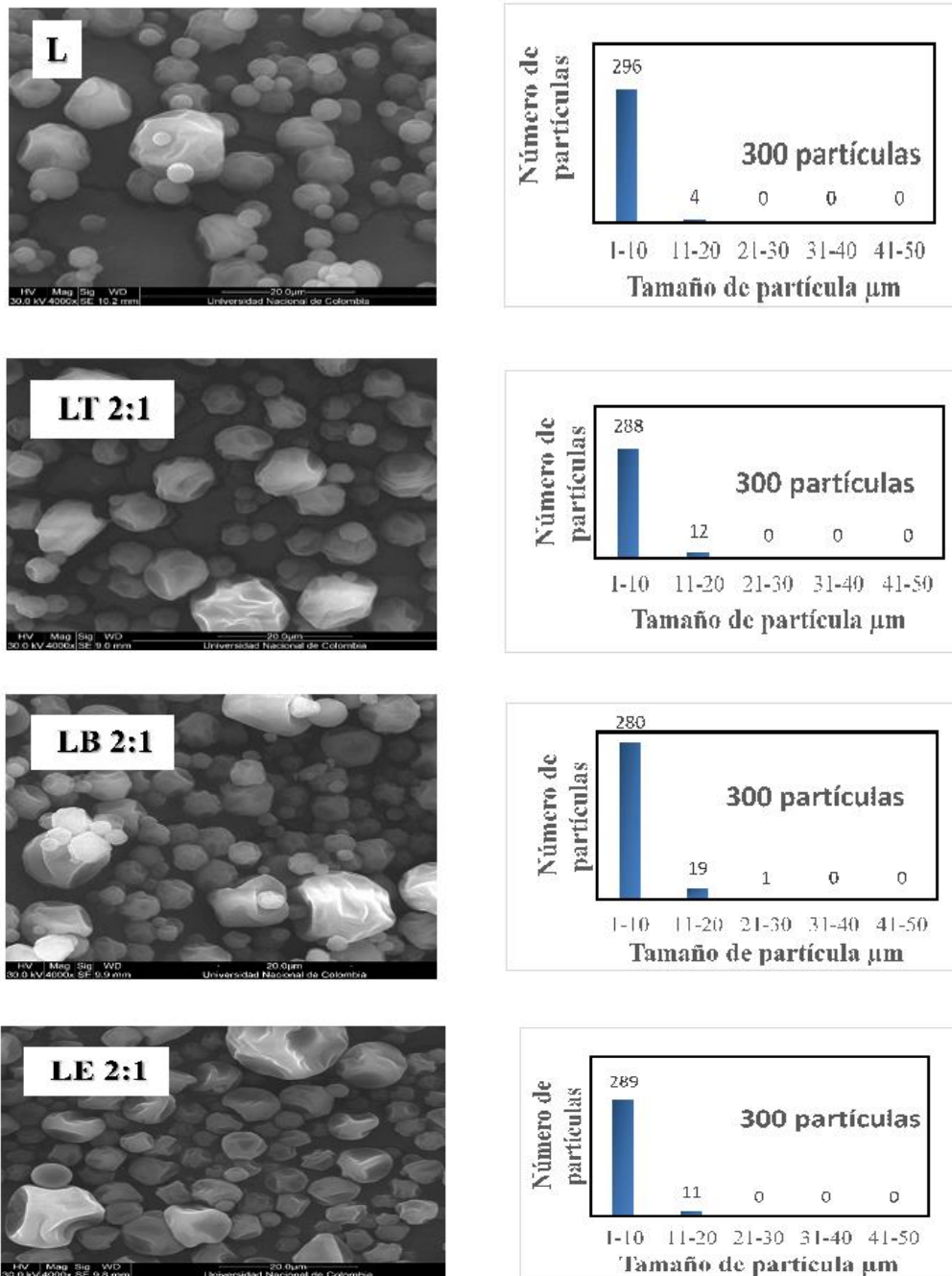


Figura 8. Micrografías de los microencapsulados de lulo, lulo-tomate (2:1), lulo-brócoli (2:1), lulo-espinaca (2:1) por SEM y gráficos de distribución de partícula (las demás micrografías se encuentran en el anexo B).

El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin Ciocalteu, en el cual se mide la reducción del agente por compuestos fenólicos y otros compuestos como azúcares reductores, con la formación de un complejo azul con un máximo de absorción a $\lambda = 760$ nm que es proporcional a la concentración total de polifenoles.

El contenido de fenoles totales fue mayor en el microencapsulado que solo contenía lulo. En las mezclas, el contenido aumentó al aumentar la proporción de lulo. El mayor contenido de polifenoles se observó en la mezcla que contenía lulo-espínaca, seguida por las mezclas con brócoli y las de tomate. Este resultado concuerda con lo reportado por Zapata, Piedrahita, & Benjamín (2014) quienes determinaron la capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia, encontrando que la espínaca tenía un alto contenido de compuestos fenólicos comparada con otras hortalizas.

La composición de fenoles y la actividad antioxidante del lulo ha sido reportada en varios estudios (Cerón *et al.*, 2011; Contreras-Calderón *et al.*, 2011); y se han identificado ácidos cafeoil quínicos y el 1-O-sinapoil β -D-glucósido (Forero *et al.*, 2015), entre otros.

No se encuentran reportes de contenidos de compuestos fenólicos en microencapsulados de lulo bajo las mismas condiciones de proceso. Sin embargo, en el estudio realizado por Igual *et al.* (2014) en pulpa de lulo, la microencapsulación demostró ser efectiva, ya que a una temperatura de entrada de 125°C, usando como agentes encapsulantes maltodextrina y goma arábica, se observó un incremento en el contenido de fenoles totales.

También se cuantificaron los carotenoides presentes en cada una de las muestras, ya que ellos también se consideran compuestos antioxidantes. El contenido de carotenoides totales fue más alto en las mezclas que contenían mayor proporción de vegetal. Las muestras que tenían espínaca presentaron los valores más altos de carotenoides, teniendo en cuenta que este vegetal es una fuente importante de β -caroteno, luteína y zeaxantina.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta la presencia de clorofilas, las cuales presentan bandas de absorción en la misma región que los carotenoides y pueden ser causa de interferencia (Quek *et al.*, 2007).

Tuyen *et al.* reportaron que el proceso de *spray drying* de la fruta a una temperatura de entrada de 120 °C resultó efectivo para preservar carotenoides, considerando que el proceso de *spray drying* es apropiado para compuestos sensibles al calor como los carotenoides, además la adición de maltodextrina previo al proceso de encapsulación se resulta efectiva al preservar el β -caroteno (Desobry, Netto & Labuza, 1997).

La temperatura usada en el proceso (120°C) permitió preservar estos compuestos, ya que los carotenoides son sensibles al calor debido a su estructura química altamente insaturada. La temperatura de entrada afecta el contenido de carotenoides, por tanto, el incremento de esta variable ha mostrado pérdidas en licopeno y β -caroteno, en tomate, debido a degradación térmica y oxidación afectando además el color de los sólidos producidos por *spray drying* (Desobry, Netto, & Labuza, 1997; Abadio *et al.*, 2004).

5.2 Propiedades biofuncionales de los sólidos

En la medición de la actividad antioxidante por el método del ABTS se comparó la habilidad de los antioxidantes presentes en los microencapsulados para atrapar el catión radical ABTS^{•+}. La actividad antioxidante fue mayor en el microencapsulado de lulo (Tabla 6), lo cual se puede relacionar con el contenido de fenoles que también fue mayor en este sólido, con respecto a las mezclas. Según Forero *et al.* (2016) la actividad antirradicalaria *in vitro* del lulo se preserva después de someter la fruta a secado por *spray drying*, siendo los compuestos fenólicos los responsables de actividad. En trabajos previos (Contreras-Calderón *et al.*, 2011; Vasco *et al.*, 2008) se han encontrado correlaciones positivas entre ABTS y fenoles totales en lulo, es decir que parte de la actividad antioxidante del lulo se debe a este tipo de compuestos.

La actividad antioxidante de las mezclas fruta+vegetal fue bastante menor con respecto al encapsulado de lulo, así como lo fue el contenido de polifenoles. En varias investigaciones se ha encontrado disminución de actividad antioxidante y fenoles totales después de someter muestras a secado por *spray drying*. En el secado de jugo de bayberry se observó una pérdida de antocianinas y fenoles totales, cuando la temperatura de entrada era de 80°C (Fang & Bhandari, 2011).

La actividad inhibitoria de ACE se determinó mediante ensayo espectrofotométrico, basado en el método de Cushman & Cheung (1971) basado en la hidrólisis del Hipuril-histidil-leucina mediante ACE, obteniendo como productos histidil-leucina y ácido hipúrico, este último, fue cuantificado midiendo la absorbancia a $\lambda=228$ que es la longitud de onda máxima de absorción del ácido hipúrico. La disminución en el valor de absorbancia es proporcional a la inhibición ejercida por cada una de las muestras.

La inhibición de la ACE se midió en los microencapsulados de lulo y en las mezclas con menor proporción de vegetal, debido a que se vio deterioro de la parte sensorial (aroma y sabor) al aumentar la proporción del vegetal. En la Tabla 6 se observa que el porcentaje de inhibición de ACE fue más alto en la mezcla lulo- Brócoli en proporción 10:1, pero estadísticamente comparable con el valor obtenido para el microencapsulado de lulo.

En cuanto a la inhibición de ACE del microencapsulado de lulo se obtuvo un porcentaje de inhibición de 57,96. Recientemente, Forero, *et al.* (2016) reportaron que los sólidos obtenidos por *spray drying* presentan alta actividad inhibitoria para ACE (en términos de IC_{50}). Sin embargo, es difícil comparar el porcentaje de inhibición de ACE obtenido, ya que esto solo sería posible si las condiciones del método fueran idénticas.

Se han realizado estudios *in vivo* en cuanto a la reducción en la presión sanguínea asociada al consumo de extractos de tomate y licopeno. El extracto hidrofílico de tomate es rico en compuestos fenólicos, especialmente quercetina y derivados del ácido cafeico, se presume que estos compuestos fenólicos podrían ejercer actividad inhibitoria de ACE (Actis-Goretta *et al.* 2006). Sin embargo en el microencapsulado que tenía lulo y tomate se encontró disminución en la inhibición de la actividad de ACE, probablemente debido a efectos antagónicos de otros compuestos presentes en el microencapsulado. Estos resultados son concordantes con el estudio realizado por Belović *et al.* (2016) en extractos hidrofílicos y lipofílicos de jugo de tomate, quienes observaron que bajas concentraciones de estos extractos no mostraron actividad inhibitoria de ACE.

Tabla 6. Actividad antioxidante y antihipertensiva de los microencapsulados

Muestra	Actividad antioxidante (mmolTrolox/100 g)	Actividad antihipertensiva % inhibición ACE
L	1,3±0,004 ^a	57.96 ± 0.18 ^a
LT (2:1)	0,6±0,002 ^c	-
LT (5:1)	0,7±0,003 ^b	-
LT(10:1)	0,7±0,002 ^b	26.49 ± 0.26 ^b
LB (2:1)	0,4±0,002 ^f	-
LB (5:1)	0,5±0,001 ^e	-
LB(10:1)	0,7±0,009 ^b	59.18 ± 0.23 ^a
LE (2:1)	0,6±0,002 ^c	-
LE (5:1)	0,6±0,003 ^c	-
LE(10:1)	0,6±0,008 ^d	9.39 ± 0.01 ^c

Datos expresados como el promedio ± desviación estándar $n=3$. Letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa estadísticamente con un nivel de confianza del 95 % ($P \leq 0.05$). L = lulo; LT = lulo-tomate; LB = lulo-brócoli; LE = lulo-espinaca. Entre paréntesis está la proporción peso:peso. - = no determinado.

5.3 Análisis sensorial descriptivo y evaluación de los compuestos activos en el aroma.

Para el análisis sensorial solo se escogieron cinco muestras, la de lulo porque presentó mayor contenido de fenoles totales y actividad inhibitoria de ACE, las que tenía brócoli porque el valor de actividad antihipertensiva fue comparable con el del lulo, y la de espinaca (10:1) por su contenido de fenoles totales y carotenoides. No se escogieron las que tenían tomate porque presentaron los valores más bajos de fenoles totales y se disminuyó el valor de actividad inhibitoria de la ACE.

Las cinco muestras de encapsulados disueltos en agua, fueron evaluados por 9 panelistas entrenados, quienes las ordenaron de acuerdo a un criterio específico “sabor y olor a lulo natural”. En la Tabla 7 se muestran estos resultados. Para los dos atributos, olor y sabor,

el microencapsulado de lulo tuvo el mayor puntaje seguido por las muestras LE 10:1 y LB 10:1 las cuales contenían la menor proporción de espinaca y de brócoli.

Tabla 7. Suma de rangos y ordenación olor y sabor a lulo natural.

Asignación	Muestra	Sumatoria	
		Olor	Sabor
A	LE 10:1	34	34
B	LB 5:1	15	21
C	L	37	41
D	LB 2:1	19	13
E	LB 10:1	30	26

Al realizar las comparaciones estadísticas, mediante la prueba de Friedman se concluyó que si existen diferencias significativas entre las diferentes muestras en cuanto al criterio específico evaluado. Para determinar cuáles productos fueron significativamente diferentes se calculó la diferencia mínima significativa (DMS= 13.4), Si el valor absoluto de la diferencia observada entre las sumas de rangos de dos productos es igual o mayor a la DMS, entonces se concluye que a los dos productos se les ha dado rangos significativamente diferentes (Anexo C).

En la Tabla 8 se observan los resultados de las muestras que presentaron diferencias significativas en cuanto al atributo de olor, encontrándose que no hay diferencias significativas entre el encapsulado de lulo y las muestras que mezclan brócoli y espinaca en la menor proporción. Pero cuando se incrementa la cantidad de brócoli si hay diferencias significativas. En el análisis descriptivo, los panelistas detectaron “off flavors” en las muestras que tenían brócoli y lo asocian a “olor a pescado” o a “omega”.

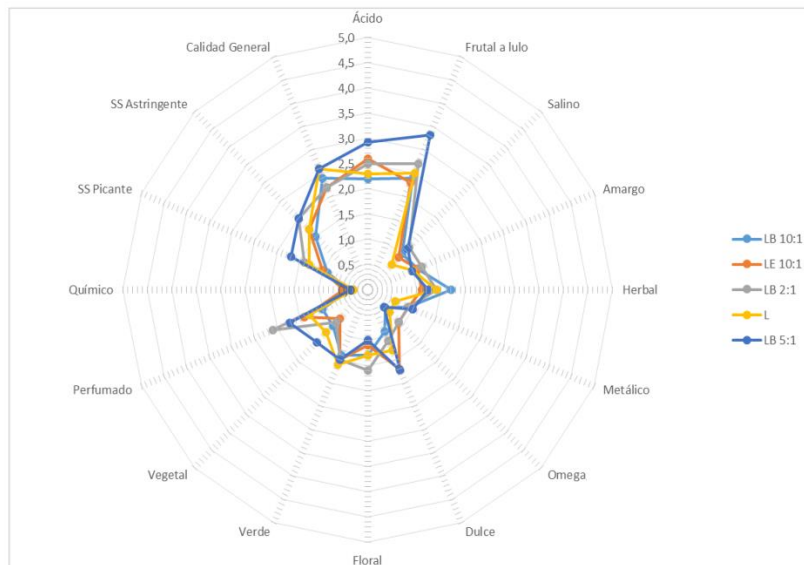
Con respecto al sabor se encontraron diferencias significativas entre el encapsulado de lulo y todas las mezclas con brócoli, mientras que entre la muestra de lulo y espinaca LE10:1 no hubo diferencia significativa (Tabla 8).

Tabla 8. Diferencia entre la suma de rangos en olor y sabor a lulo.

Asignación	Diferencia	
	Olor	Sabor
A-B	19	13
A-C	3	7
A-D	15	21
A-E	4	8
B-C	22	20
B-D	4	8
B-E	15	5
C-D	18	28
C-E	7	15
D-E	11	13

A= LE 10:1, B= LB 5:1, C=L, D=LB 2:1, E=LB 10:1

Los encapsulados con mezcla de lulo y brócoli presentaron calificación más baja en las pruebas de ordenación en sabor y olor, además, exhibieron mayor intensidad en la astringencia, y los evaluadores comentaron que presentaban una nota descrita como omega, en olor para LB5:1 y en sabor para LB10:1.

**Figura 9.** Perfil de sabor comparativo para los microencapsulados de lulo

Mediante CG-EM se identificaron los principales compuestos volátiles activos olfativamente presentes en los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales, por comparación con los índices publicados anteriormente (Forero et al., 2015) (Tabla 9). En todas las muestras se identificaron los ésteres: butanoato de metilo, butanoato de etilo, hexanoato de metilo, hexanoato de etilo, benzoato de metilo y benzoato de etilo, los cuales aportan notas frutales y dulces que son agradables y características de la fruta (Forero et al., 2015).

Estos compuestos fueron también identificados por Forero *et al.* (2015) cuando comparaban el aroma de lulo fresco y sometido a cuatro procesos de secado entre estos *el spray drying*. Los perfiles cromatográficos de los sólidos obtenidos fueron similares cualitativa y cuantitativamente con el de la pulpa de la fruta antes del secado (Figura 10).

Los “off flavors” producidos por el brócoli se han asociado principalmente a compuestos azufrados (Hansen *et al.*, 1997; Krumbein, Schonhof, & Brückner, 2006). Sin embargo en los perfiles cromatográficos del análisis de compuestos volátiles de los microencapsulados no se reveló la presencia de ninguno de estos compuestos.

Teniendo en cuenta los resultados de la actividad inhibitoria de ACE, actividad antioxidante y del análisis sensorial, la muestra L correspondiente al sólido de lulo fue escogida para su aplicación en una bebida.

Tabla 9. Identificación de compuestos volátiles de olor activo en microencapsulados de lulo y vegetales.

Nº ^a	Volátil activo olfativamente	IK HP-5	IK FFAP	Cantidad (% área) ^b				
				L	LB 2:1	LB 5:1	LB10:1	LE10:1
1	Butanoato de metilo	810	1010	++++	++++	++++	+	+
2	Butanoato de etilo	845	1066	++++	++++	++	+	+
3	Trans- 2-hexenal	877	1243	++	++	++	++	+
4	Hexanoato de metilo	932	1212	+++	++++	++++	++	+++
5	Hexanoato de etilo	1001	1253	+	++++	+++	++++	+
6	Benzoato de metilo	1098	1660	++++	++++	++++	++++	+++
7	Benzoato de etilo	1173	1701	++	++	++	+	++

^a Ordenados de acuerdo a su elución en columna HP-5.

^b Cantidad relativa: 0-10 % (+); 10 -30 % (++) , 30-50 % (+++) > 20 % (++) área relativa análisis por CG-EM.

L = lulo; LB = lulo-brócoli; LE = lulo-espinaca.

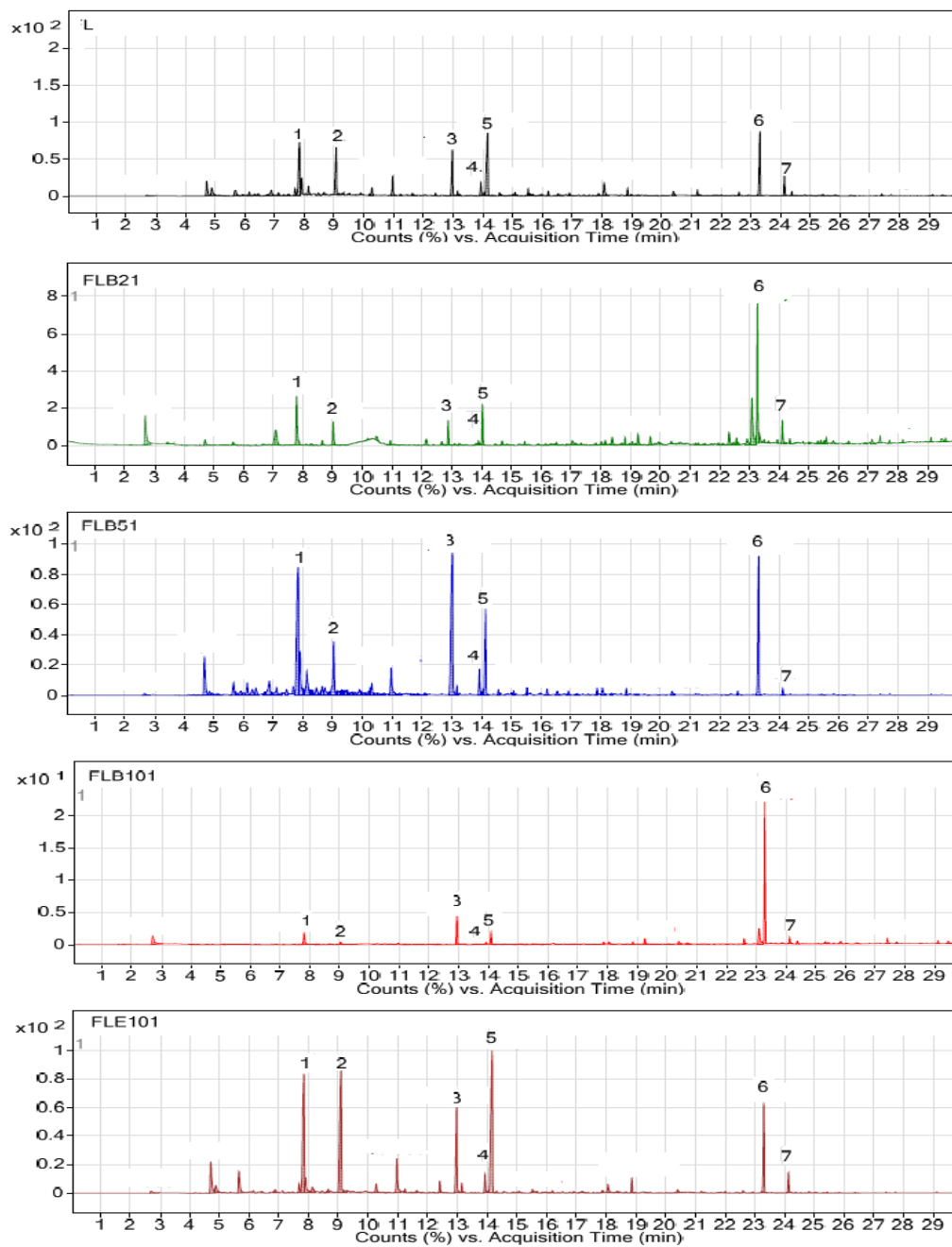


Figura 10. Perfiles cromatográficos de los compuestos volátiles obtenidos por HS-MEFS/CG-FID en columna FFAP, a partir de los sólidos microencapsulados de lulo (1g/10mL). Lulo, lulo-brócoli 2:1, lulo-brócoli 5:1, lulo-brócoli 10:1, lulo-espínaca 10:1. Los números coinciden con los datos de la Tabla 9.

5.4 Desarrollo y caracterización de la bebida funcional

El microencapsulado de lulo fue aplicado en una bebida láctea, teniendo en cuenta que las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés de los consumidores hacia los alimentos funcionales; en este sentido bebidas que mezclan leche y frutas son considerados alimentos funcionales y nutricionales, ya que las frutas son fuente de vitaminas, minerales, carbohidratos, entre otros, y las bebidas lácteas aportan aminoácidos esenciales, además son menos ácidas que los jugos de fruta (Hassan *et al.*,2016) Por tanto, incorporar nuevos ingredientes en bebidas lácteas podría mejorar sus características nutricionales y organolépticas.

El nivel de agrado y aceptación de la bebida se determinó mediante una prueba afectiva hedónica, para esto se utilizó una escala de siete puntos no estructurada. La Figura 11 muestra el promedio de los resultados del análisis sensorial hedónico de la bebida con las tres concentraciones de microencapsulado (3, 5 y 7%) Como se observa en la Figura 11, la muestra con el 7% de microencapsulado tuvo en general la mayor aceptación y mayor puntaje en preferencia “me gusta mucho” (63%). La muestra con el 3% de microencapsulado presentó puntajes más altos para la calificación “me disgusta ligeramente” (25%), esta fue la muestra con menor aceptación.

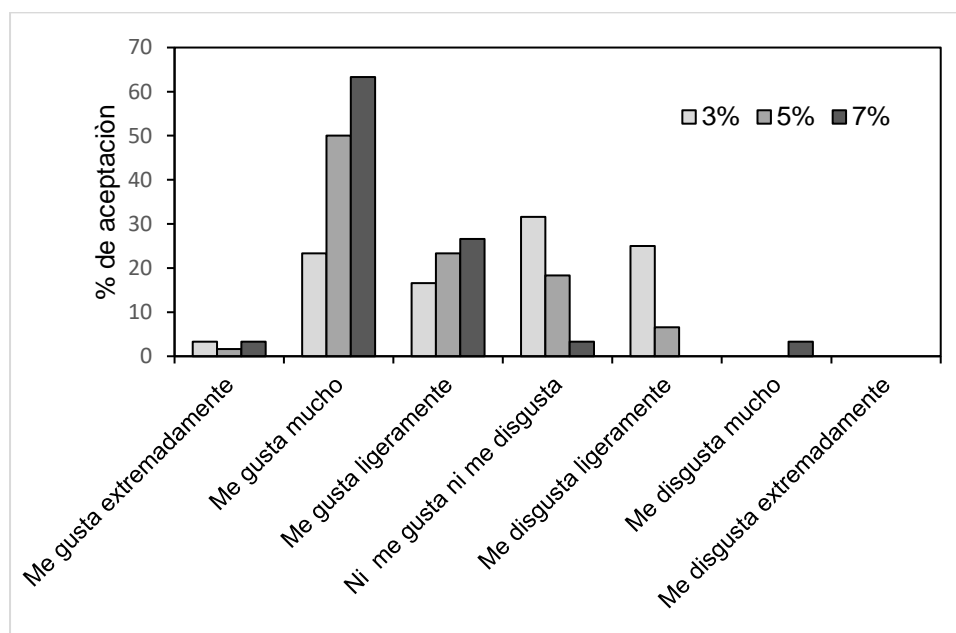


Figura 11. Resultados del panel de aceptación de la bebida láctea con microencapsulado de lulo.

En cuanto a la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la bebida con diferentes inclusiones de microencapsulado (Tabla 10). Se observó que tanto la actividad antioxidante como el contenido de fenoles totales aumento proporcionalmente con el incremento de la concentración (3, 5,7%).

Tabla 10. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la bebida láctea con adición de microencapsulado de lulo.

Microencapsulado (%)	Fenoles totales (mg GAE/L)	Actividad antioxidante (mmolTrolox/L)
3	4,68±0,44 ^a	0,79±0,003 ^a
5	6,18±0,61 ^a	0,84±0,013 ^{ab}
7	8,27±0,92 ^b	0,91±0,059 ^b

Datos expresados como el promedio ± desviación estándar $n=3$. Letras diferentes en la misma columna indican una diferencia significativa estadísticamente con un nivel de confianza del 95 % ($P \leq 0.05$).

La microencapsulación de lulo resulta como una alternativa para el aprovechamiento de este fruto percedero y para obtención de productos con valor agregado. Se comprobó que el lulo después de encapsular mantiene sus propiedades sensoriales y biofuncionales, convirtiéndose en una materia prima promisoría para tal fin. Al ser aplicado en matrices alimentarias presenta ventajas, ya que se preservan los compuestos bioactivos y se aumenta el tiempo de vida útil del producto.

6. Conclusiones

La actividad de agua de los sólidos obtenidos estuvo entre 0,27-0,37, por tanto se pueden considerar estables al deterioro por microorganismos y a degradación. Pueden ser usados para aplicaciones en matrices alimentarias.

No se encontró diferencia en la morfología presentada por las microcápsulas en cada uno de los tratamientos. Las microcápsulas obtenidas fueron esféricas y achatadas con tamaño en su mayoría entre 1- 10 μm , lo cual es característico de las partículas obtenidas por *spray drying*.

El contenido de carotenoides se incrementó con la inclusión de vegetales, por el contrario el contenido de fenoles disminuyó al aumentar la proporción de vegetal consecuentemente también disminuyó la actividad antioxidante.

La actividad antihipertensiva de los microencapsulados aumentó ligeramente con la inclusión de brócoli con respecto a la muestra de lulo, sin embargo la presencia de “off flavors” disminuye la calidad del sólido, esto se vio reflejado en el análisis sensorial y análisis de compuestos activos olfativamente.

La mayor inclusión de microencapsulado presentó el mayor porcentaje de aceptación por parte de los consumidores, así mismo a esta concentración se logra incrementar la actividad antioxidante y fenoles totales del producto.

En el desarrollo de productos alimenticios, es fundamental que se mantenga una calidad sensorial aceptable y agradable, pues esto asegura la fidelidad del consumidor.

Producción académica

Artículo publicado en la Revista Agronomía Colombiana y presentación modalidad oral: Desarrollo de microencapsulados biofuncionales a partir de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y vegetales mediante *spray drying*. III Congreso Internacional de Investigación e Innovación en Ciencia y Tecnología de Alimentos IICTA2016 y el II Seminario de Empaques Biodegradables. Noviembre 2-4 de 2016

Desarrollo de microencapsulados biofuncionales a partir de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y vegetales mediante *spray drying*

Development of biofunctional microencapsulates from lulo (*Solanum quitoense* Lam.) and vegetables by *spray drying*

Camilo Andrea Muñoz¹ y Coralía Osorio¹

RESUMEN

En la búsqueda de alternativas para incrementar la vida útil del lulo y preservar sus características biofuncionales (actividad antihipertensiva), se obtuvieron microencapsulados por *spray-drying* a partir de pulpa de lulo con maltodextrina como agente encapsulante. Estos encapsulados se enriquecieron con extractos de tres vegetales, seleccionados por sus propiedades antihipertensivas y contenido de carotenoides. Los sólidos se caracterizaron físicoquímicamente y se les determinó el contenido de fenoles totales, carotenoides totales y actividad inhibitoria de la enzima ACE (Angiotensin Converting Enzyme). Los valores de *A_w* de los sólidos estuvieron en el rango de 0,27 y 0,37. Por SEM se evidenció la formación de microcápsulas con apariencia esférica y uniforme y con tamaño de partícula menor a 10 µm. El contenido de carotenoides totales fue mayor en los microencapsulados de lulo que contenían espinaca, y la presencia de brócoli incrementó ligeramente la actividad antihipertensiva.

Palabras clave: frutas tropicales, carotenoides, actividad antihipertensiva, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

In the search for alternatives to increase the shelf-life and preserve the biofunctional properties of lulo fruit (antihypertensive activity), microencapsulates from lulo fruit pulp and maltodextrin as encapsulating agent were obtained by *spray drying*. These encapsulates were enriched with extracts from three vegetables that exhibited antihypertensive activity and high carotenoid-content. The solids were physicochemical characterized and the total phenolic content, carotenoid content and ACE (Angiotensin Converting Enzyme) inhibitory activity were determined. The *A_w* values were ranged between 0.27 and 0.37. The formation of spherical and uniform microcapsules with particle size less than 10 µm was confirmed by SEM. The carotenoid content was higher in microencapsulates containing spinach, and the presence of broccoli slightly increased the antihypertensive activity.

Key words: tropical fruits, carotenoids, antihypertensive activity, phenolic compounds.

Introducción

En Colombia el lulo (*Solanum quitoense* Lam.) tiene una alta importancia económica, con 8.372 ha cultivadas en el año 2013, y 3.889 ha de ellas en etapa productiva (Base de Datos de Cifras Agropecuarias en Colombia, 2016). Sin embargo, una limitante de este crecimiento ha sido su alta perecibilidad, de modo que se exporta en presentaciones de jugo, concentrado y congelado, principalmente. El consumo de frutas tropicales tanto en el mercado nacional e internacional está en aumento, debido al creciente reconocimiento de su valor en la salud humana (Contreras *et al.*, 2011). Recientemente, en nuestro grupo de investigación se encontró que el lulo deshidratado presentaba altos contenidos de fibra dietaria, actividad antioxidante y actividad antihipertensiva frente al ensayo de inhibición de la enzima ACE-I (Angiotensin Converting Enzyme) (Forero *et al.*, 2015; Forero *et al.*, 2016a; Forero *et al.*, 2016b).

En el mercado internacional de alimentos se encuentran productos que contienen frutas y hortalizas, y que tienen gran aceptación, ya que su consumo se ha asociado con la reducción de riesgo de enfermedades crónicas. En el presente trabajo se estudió la influencia de la incorporación de extractos de vegetales (brócoli, tomate y espinaca) en la actividad antihipertensiva *in vitro* de microencapsulados de lulo y maltodextrina, con miras al desarrollo de productos alimenticios con valor agregado. Estos vegetales se seleccionaron con base en lo reportado en la literatura respecto a su actividad antihipertensiva (Bose y Agrawal, 2007; Yang *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2006).

Materiales y métodos

Se prepararon 10 muestras de microencapsulados de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), uno como referencia y nueve a partir de un diseño factorial (3x3), con tres vegetales,

tomate (*Lycopersicon esculentum*), brócoli (*Brassica oleracea*) y espinaca baby (*Spinacia oleracea* L.) en tres proporciones diferentes, 2:1, 5:1, 10:1, p/p lulo-vegetal. El proceso de microencapsulación se realizó en un *spray-drier* Lab-plant SD-06 (Huddersfield, UK), utilizando como agente encapsulante maltodextrina, en una proporción fruta/vegetal-maltodextrina (2:1) siguiendo las condiciones reportadas por Forero *et al.* (2015). Los sólidos obtenidos se caracterizaron fisicoquímicamente, midiendo su A_w con un lector portátil de actividad de agua HygroPalm AW1 (Rotronic Instruments, Huntington, NY) a 20 °C y los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) en un espectrofotómetro MiniScan EZ (HunterLab[®]). La morfología de los sólidos recubiertos con oro, se realizó por SEM en un equipo FEI QUANTA 200 (30 kV).

La distribución de tamaño de partícula se determinó midiendo el diámetro de 300 partículas localizadas en un área determinada. A todas las muestras se les determinó el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu expresando los resultados como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de sólido. El contenido de carotenoides totales se determinó por espectrofotometría UV-vis en un espectrofotómetro Jenway 7305 UV/visible 195 (Jenway, Staffordshire, UK), a $\lambda = 450$ nm y expresando los resultados μg de β -caroteno/g de muestra. La medida de la actividad inhibitoria de la enzima ACE-1 *in vitro*, se realizó siguiendo el procedimiento publicado por Hernández *et al.* (2003). Se utilizó como sustrato hipuril-histidil-leucina (HHL). La actividad fue expresada como porcentaje de inhibición de la enzima. Todos los resultados son el promedio de tres determinaciones. Se realizó un análisis de varianza Anova, a un nivel del 95% de confianza ($P < 0,05$).

Resultados y discusión

Los valores de A_w en todas las muestras estuvieron entre 0,27 y 0,37 (Tab. 1) lo cual indica que se obtuvieron sólidos microbiológicamente estables ya que el deterioro causado por microorganismos se inhibe a niveles de actividad de agua por debajo de 0,6. Se determinaron los parámetros de colorimetría tristímulo de todos los sólidos, ya que este es uno de los atributos de calidad sensorial más importantes para la atracción del consumidor. En las mezclas de lulo y tomate, los valores de las coordenadas de color a^* y b^* se localizaron en el primer cuadrante ($+a^*$, $+b^*$), concordantes con colores rojizos y amarillentos (Fig. 1); para las mezclas de lulo con brócoli y espinaca, los datos se encuentran en el primer y segundo cuadrante ($-a^*$, $+b^*$) de acuerdo con el incremento de los tonos verdes por la presencia de los vegetales. En cuanto a la luminosidad (L^*), este parámetro disminuyó con la presencia de mayor proporción de los vegetales, a excepción del brócoli, donde los valores de luminosidad son más altos que en la muestra de lulo de referencia.

En todos los sólidos se evidenció la formación de microcapsulas de forma esférica y sin aglomeración lo cual indica propiedades de flujo satisfactorias. En las micrografías obtenidas por SEM (datos no mostrados), se observan algunas cápsulas achatadas de paredes muy delgadas, y mecánicamente muy flexibles. Así mismo, esta morfología se asocia a los mecanismos de secado por asperción con aire caliente. Las capsulas presentaron una estructura bastante homogénea y en su mayoría tamaños entre 1 y 10 μm (Fig. 2).

El contenido de fenoles totales fue mayor en el microencapsulado que solo contenía de lulo. En las mezclas, el

TABLA 1. Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados de lulo y sus respectivas mezclas con vegetales. $n=3$, \pm desviación estándar.

Muestra	A_w	Parámetros de color					Fenoles totales (mg GAE/g)	Carotenoides totales (mg β -caroteno/g)	Actividad antibacteriana % inhibición ACE
		L	a	b	C^*_{ab}	h_{ab}			
L	0.35 \pm 0.00 ^a	49.06 \pm 0.01	-0.01 \pm 0.01	13.00 \pm 0.01	13.00 \pm 0.01	89.97 \pm 0.02	1.36 \pm 0.04 b	2.09 \pm 0.02 d	57.96 \pm 0.10
L7 (2:1)	0.34 \pm 0.00 ^a	48.48 \pm 0.32	1.16 \pm 0.00	13.78 \pm 0.01	13.77 \pm 0.01	85.21 \pm 0.01	0.87 \pm 0.06 d	3.19 \pm 0.03 a	-
L7 (5:1)	0.33 \pm 0.00 ^c	49.01 \pm 0.19	1.13 \pm 0.01	14.98 \pm 0.01	14.98 \pm 0.01	85.95 \pm 0.04	1.02 \pm 0.06 b	2.15 \pm 0.02 a	-
L7(10:1)	0.32 \pm 0.00 ^c	47.83 \pm 0.13	1.37 \pm 0.01	15.41 \pm 0.03	15.41 \pm 0.01	84.89 \pm 0.01	1.06 \pm 0.02 a	1.76 \pm 0.12 a	26.49 \pm 0.26
L8 (2:1)	0.27 \pm 0.00 ^f	49.76 \pm 0.08	-0.11 \pm 0.00	11.91 \pm 0.01	11.91 \pm 0.01	84.47 \pm 0.00	1.01 \pm 0.06 d	3.25 \pm 0.09 a	-
L8 (5:1)	0.27 \pm 0.00 ^a	49.85 \pm 0.02	0.01 \pm 0.01	12.01 \pm 0.01	12.01 \pm 0.01	88.74 \pm 0.03	1.03 \pm 0.09 d	3.09 \pm 0.08 a	-
L8(10:1)	0.30 \pm 0.00 ^b	49.83 \pm 0.08	-0.18 \pm 0.02	12.53 \pm 0.02	12.53 \pm 0.02	89.21 \pm 0.07	1.16 \pm 0.09 c	2.69 \pm 0.09 b	59.10 \pm 0.23
L2 (2:1)	0.34 \pm 0.00 ^d	41.59 \pm 0.05	-2.01 \pm 0.00	18.04 \pm 0.01	17.82 \pm 0.01	81.14 \pm 0.00	1.07 \pm 0.06 f	5.88 \pm 0.01 a	-
L2 (5:1)	0.34 \pm 0.01 ^d	44.82 \pm 0.32	-1.96 \pm 0.00	15.98 \pm 0.08	15.98 \pm 0.08	84.42 \pm 0.01	1.23 \pm 0.05 a	3.91 \pm 0.04 c	-
L2(10:1)	0.27 \pm 0.00 ^a	47.18 \pm 0.01	-1.20 \pm 0.00	14.77 \pm 0.00	14.72 \pm 0.00	85.37 \pm 0.02	1.24 \pm 0.04 c	2.73 \pm 0.03 c	9.39 \pm 0.01

Promedios con letras idénticas, en la misma columna, indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

L: lulo; L7: lulo-tomate; L8: lulo-brócoli; L2: lulo-espinaca; entre paréntesis está la proporción peso-peso; - : no determinado.

contenido aumentó al aumentar la proporción de lulo. Sin tener en cuenta el microencapsulado de referencia (solo lulo), el mayor contenido de polifenoles se observó en la mezcla que contenía lulo-espínaca, seguida por las mezclas con brócoli y las de tomate. Este resultado está de acuerdo con lo reportado por Zapata et al. (2014), quienes determinaron la capacidad atrapadora de radicales

oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia, encontrando que la espínaca tenía un alto contenido de compuestos fenólicos. La composición de fenoles y la actividad antioxidante del lulo ha sido reportada en varios estudios, se han identificado ácidos cafeoil quínicos y el 1-O-sinapoil β -D-glucosido (Forero et al., 2016a), entre otros.

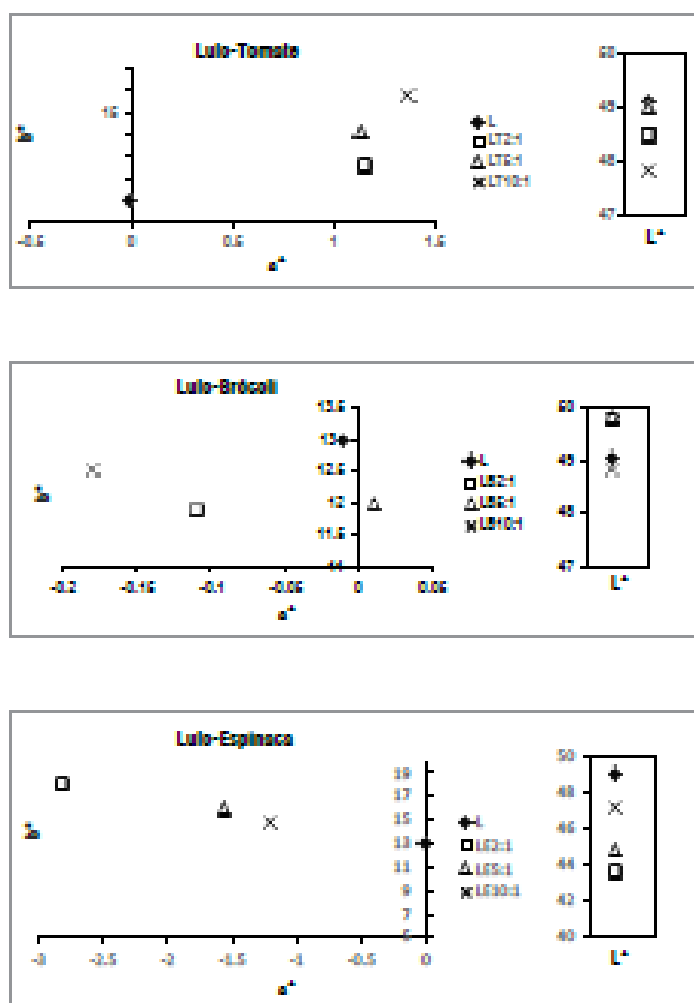


FIGURA 1. Localización de los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) de los microencapsulados de lulo. L: lulo, LT: lulo-tomate, LB: lulo-brócoli y LE: lulo-espínaca. En paréntesis la proporción peso-peso.

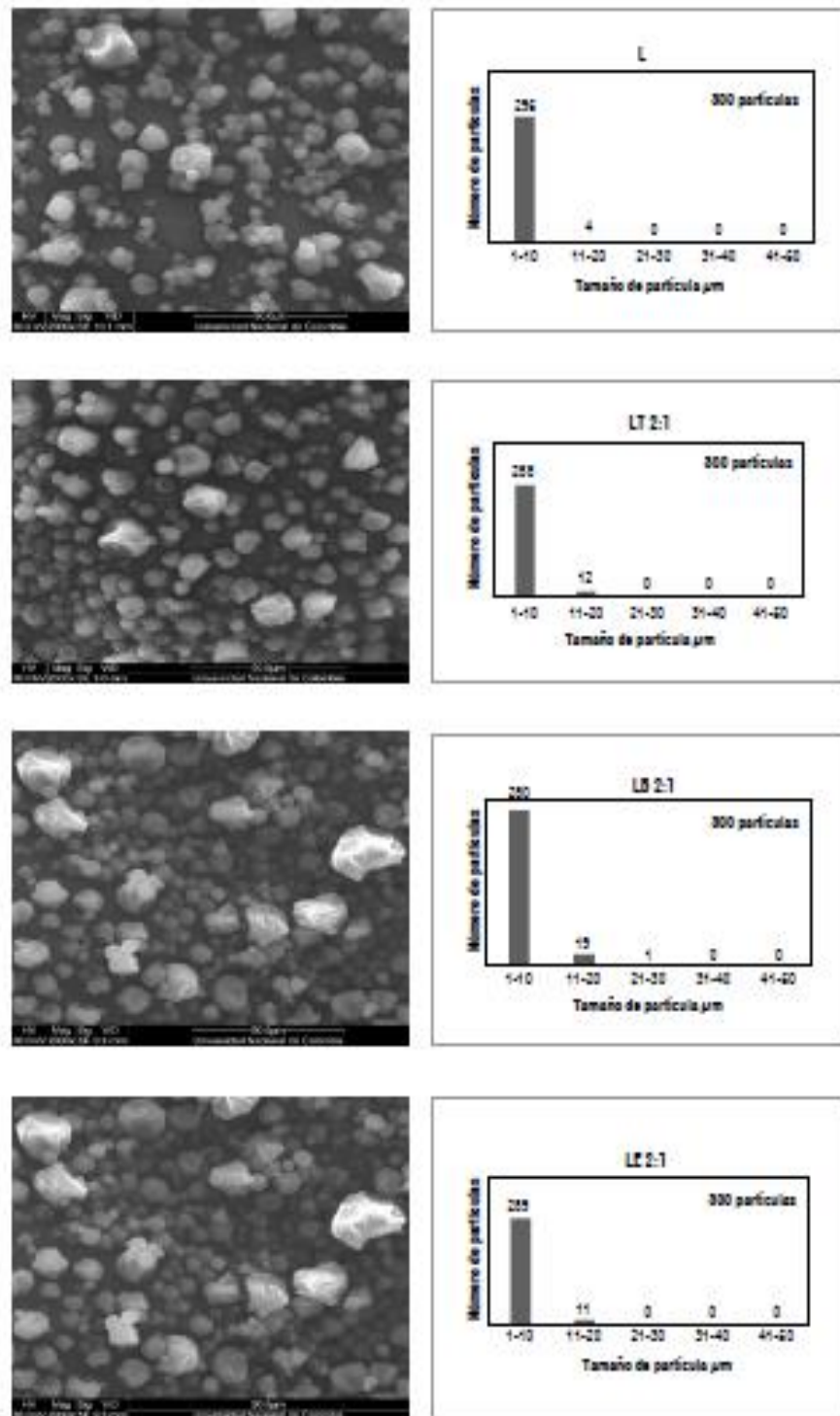


FIGURA 2. Micrografías de los microencapsulados de lulo obtenidas por SEM y gráficas de distribución de partícula. L: lulo, LT: lulo-tomate, LB: lulo-brócoli y LE: lulo-espinaca.

El contenido de carotenoides totales fue más alto en las mezclas que contenían mayor proporción de los vegetales, resultado importante porque la presencia de carotenoides incrementa la actividad antioxidante. Las muestras que contenían espinaca presentaron los valores más altos de carotenoides, teniendo en cuenta que este vegetal es una fuente importante de carotenoides como β -caroteno, luteína y zeaxantina, así como de clorofilas que absorben en la misma longitud de onda. En cuanto a la actividad inhibitoria de la enzima ACE-1, se evidenció que la presencia de tomate y espinaca disminuyó significativamente esta actividad, en tanto que el brócoli la aumentó ligeramente, comparándola con la muestra de lulo de referencia. Sin embargo, el reto es controlar las sustancias del aroma del brócoli (compuestos azufrados) que deterioran esta característica sensorial.

Conclusiones

La inclusión de vegetales durante la obtención de microencapsulados a partir de lulo, contribuyó al incremento de carotenoides en todos los casos y a la actividad antihipertensiva solo en el caso del brócoli. Se debe seguir trabajando con el objeto de mejorar el aroma de los productos obtenidos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas (contrato No. 0459 -2013, RIFRUTBIO).

Literatura citada

- Base de Datos de Cifras Agropecuarias en Colombia. 2016. En: www.agronec.gov.co; consulta: junio de 2016.
- Bose K. y B.K. Agrawal. 2007. Effect of lycopene from tomatoes (cooked) on plasma antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate and lipid profile in grade-I hypertension. *Ann. Nutr. Metab.* 51, 477-481. Doi: 10.1159/000111170.
- Contreras, J., L. Calderón, E. Guerra y B. García. 2011. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Res. Int.* 44, 2047-2053. Doi: 10.1016/j.foodres.2010.11.003.
- Forero, D.P., J. Carriazo y C. Osorio. 2016a. Effect of different drying methods on morphological, thermal, and biofunctional properties of lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit powders. *Dry. Technol.* 34, 1085-1094. Doi: 10.1080/07373937.2015.1094667.
- Forero, D.P., Ch. Masatani, Y. Fujimoto, E. Coy-Barrera, D.G. Peterson y C. Osorio. 2016b. Spermidine derivatives in lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit: sensory (taste) versus biofunctional (ACE-inhibition) properties. *J. Agric. Food Chem.* Doi: 10.1021/acs.jafc.6b0163.
- Forero, D.P., C.E. Orrego, D.G. Peterson y C. Osorio. 2015. Chemical and sensory comparison of fresh and dried lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit aroma. *Food Chem.* 169, 85-91. Doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.111
- Hernández-Ledesma, B., P.J. Martín-Álvarez y E. Pascos, E. 2003. Assessment of the spectrophotometric method for determination of angiotensin-converting-enzyme activity: influence of the inhibition type. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4175-4179.
- Lee J.E., I.Y. Bar, H.G. Lee y C.B. Yang. 2006. Tyr-Pro-Lys, an angiotensin 1-converting enzyme inhibitory peptide derived from broccoli (*Brassica oleracea*). *Food Chem.* 99,143-148. Doi: 10.1186/1472-6882-13-313
- Yang Y., E.D. Marczak, H. Utsi, Y. Kawamura y M. Yoshikawa. 2004. Antihypertensive properties of spinach leaf protein digesta. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2223-2225. Doi: 10.1021/jf034551v
- Zapata S., A.M. Piedrahita y B. Rojas. 2014. Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspect. Nutr. Humana* 16, 25-36.

Bibliografía

- Abadio, F. D. B., Domingues, A. M., Borges, S. V., & Oliveira, V. M. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice—effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, 64, 285-287.
- Acosta, Ó., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2009). Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 59, 88–94.
- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., & Fraga, C. G. (2006). Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 229–234.
- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., Keen, C. L., & Fraga, C. G. (2003). Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. *FEBS letters*, 555(3), 597-600.
- Arango, H., Vaillant, F., Vélez, C., Millan, P., & Reynes, M. (1999). Evaluation of post-harvest performance of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) fruits packed under modified atmosphere. *Fruits*, 54, 261-270.
- Base de datos de cifras agropecuarias en Colombia. (2014). Disponible en www.agronet.gov.co. (Consultado junio de 2016).
- Belović, M. M., Gironés-Vilaplana, A., Moreno, D. A., Milovanović, I. L.J., Novaković, A. R., Karaman, M. A. and Ilić, N. M. (2016), Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) processing main product (juice) and by-product (pomace) bioactivity potential measured as antioxidant activity and angiotensin-converting enzyme inhibition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-9.
- Biswas, D., Uddin, M. M., Dizdarevic, L. L., Jørgensen, A., & Duttaroy, A. K. (2014). Inhibition of angiotensin-converting enzyme by aqueous extract of tomato. *European Journal of Nutrition*, 53, 1699–1706.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D., y Ningali, P., (2010). Fruit and vegetable antioxidants in health. In: Watson, R., Preedy, V. (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health* –

- Fruits and Vegetables. Academic Press, Massachusetts, pp. 37–58
- Bondonno, C. P., Yang, X., Croft, K. D., Considine, M. J., Ward, N. C., Rich, L., Hodgson, J. M. (2012). Flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach augment nitric oxide status and improve endothelial function in healthy men and women: A randomized controlled trial. *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 95–102.
- Boye J. I. (2015). *Nutraceutical and Functional Food Processing Technology*. Wiley Blackwell. pp 190-191 Oxford, UK
- Candelas-Cadillo, M. G., Alanís-Guzmán, M. G. J., Bautista-Justo, M., Del Río-Olague, F., & García-Díaz, C. (2005). Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersion lycopene content in spray-dried tomato juice. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 4, 299-307.
- Cámara de comercio de Bogotá. Modelo empresarial de gestión agroindustrial (MEGA). *Observatorio de la innovación alimenticia mundial*. Disponible en: <http://bibliotecadigital.ccb.org.co/handle/11520/1943>. (Consultado noviembre, 2016)
- Cerón I, Higueta J, Cardona A (2010) Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector* 5:17–26
- Chen, Z. Y., Peng, C., Jiao, R., Wong, Y. M., Yang, N., & Huang, Y. (2009). Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 4485-4499.
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., y García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food research international*, 44, 2047-2053.
- Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional beverages: The emerging side of functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 1192-1206.
- Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the Angiotensin-Converting Enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637-1648.
- da Costa, J. N., Figueiredo, R. W., de Sousa, P. H. M., da Costa Gonzaga, M. L., Constant, P. B. L., & Soares, D. J. (2013). Study of the stability of passion fruit powder (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) from organic farming. *Semina: Ciências Agrárias*, 34, 705–716.
- DANE. 2015. Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA). Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/2015/boletin_en

- a_2015.pdf (Consultado Agosto, 2016).
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23, 1361–1394.
- Desobry, S. A., Netto, F. M., y Labuza, T. P. (1997). Comparison of *spray-drying*, drum-drying and freeze-drying for β -carotene encapsulation and preservation. *Journal of Food Science*, 62, 1158–1162.
- Durán, R., & Valenzuela, A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos FOSHU: ¿Los verdaderos alimentos funcionales?. *Revista Chilena de Nutrición*, 37, 224-233.
- Espejo Carpio, F. J. (2013). Obtención de hidrolizados de proteínas de leche de cabra con actividad inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina. (Tesis de Doctorado), Universidad de Granada, España.
- Fang, Z., y Bhandari, B. (2011). Effect of *spray drying* and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry*, 129, 1139–1147.
- FAO. (2006). Fichas técnicas, productos frescos y procesados. PRODAR (Programa de Desarrollo de la Agroindustria Rural de América Latina y el Caribe). Disponible en from <http://www.fao.org/fileadmin/templates/inpho/documents/PRODAR.pdf>. (Consultado Noviembre,2016).
- Forero, D. P., Orrego, C. E., Peterson, D. G., & Osorio, C. (2015). Chemical and sensory comparison of fresh and dried lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit aroma. *Food chemistry*, 169, 85-91.
- Forero D. P., Estudio químico de los compuestos responsables de las propiedades sensoriales (aroma y sabor) del lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fresco y procesado. Tesis de doctorado en química. Universidad Nacional de Colombia.2015.
- Forero, D. P., Carriazo, J. G., & Osorio, C. (2016). Effect of different drying methods on morphological, thermal, and biofunctional properties of lulo (*Solanum quitoense* Lam.) Fruit Powders. *Drying Technology*,34,1085-1094.
- Forero, D. P., Masatani, C., Fujimoto, Y., Coy-Barrera, E., Peterson, D. G., & Osorio, C. (2016). Spermidine derivatives in lulo (*Solanum quitoense* Lam.) fruit: sensory (taste) versus biofunctional (ACE-Inhibition) properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(26), 5375–5383.
- Fujita, A., Sarkar, D., Wu, S., Kennelly, E., Shetty, K., & Genovese, M. I. (2015). Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International*, 77, 194-203.

- Gabas, A. L., Telis-Romero, J., Giraldo-Gómez, G. I., & Telis, V. R. N. (2009). Propiedades termodinámicas de sorción de agua de la pulpa de lulo en polvo con encapsulantes. *Food Science and Technology (Campinas)*, 29, 911-918.
- Gancel, A. -L., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Ruales, J., & Vaillant, F. (2008). Identifying carotenoids and phenolic compounds in Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. Var. Puyo hybrid), an andean fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11890–11899.
- García, G., M. González, M. Ochoa y H. Medrano. 2004. Microencapsulación del jugo de cebada verde mediante secado por aspersion. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria* 4, 262- 266.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107–1121.
- Guzmán R., De Villaveces M.C., De Clavijo E. (1977). Estudio de la composición química del lulo (*Solanum quitoense* Lam.) y obtención de un producto comercial a partir de este fruto. *Frutas Tropicales, Boletín Informativo*, 59-69.
- Hansen, M., Laustsen, A. M., Olsen, C. E., Poll, L., & Sørensen, H. (1997). Chemical and sensory quality of broccoli (*Brassica oleracea* L. var *italica*). *Journal of Food Quality*, 20, 441-459.
- Hassan, M., Dar, B. N., Rather, S. A., Akhter, R., & Huda, A. B. (2016). Physico-chemical, sensory and microbial characteristics of fruit flavoured milk based beverages during refrigerated storage. *Advances in Biomedicine and Pharmacy*. 32-39
- Hernández-Ledesma, B., Martín-Álvarez, P. J., & Pueyo, E. (2003). Assessment of the spectrophotometric method for determination of angiotensin-converting-enzyme activity: influence of the inhibition type. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4175–4179
- Hong, F., Ming, L., Yi, S., Zhanxia, L., Yongquan, W., & Chi, L. (2008). The antihypertensive effect of peptides: a novel alternative to drugs? *Peptides*, 29, 1062–1071.
- Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856.
- ICONTEC. Norma Técnica Colombiana, NTC 5093. (2002). Frutas frescas. Lulo de Castilla. Especificaciones. Bogotá, Colombia.
- ICONTEC. Norma Técnica Colombiana, NTC 3501. (2012). Análisis Sensorial.

- Vocabulario. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Bogotá, Colombia.
- ICONTEC. Norma Técnica Colombiana, NTC 3930. (2009). Análisis sensorial, metodología, ordenamiento de acuerdo con un criterio específico (ranking). Primera actualización. Bogotá.
- ICONTEC. Norma Técnica Colombiana, NTC 3929. (2009). Análisis sensorial. Metodología. Métodos del perfil del sabor. Bogotá, Colombia.
- ICONTEC. GTC 165. (2011). Análisis sensorial. Metodología. Guía general Bogotá, Colombia.
- Igual, M., Ramires, S., Mosquera, L. H., & Martínez-Navarrete, N. (2014). Optimization of *spray drying* conditions for lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp. *Powder Technology*, 256, 233-238.
- Jacobsson, A., Nielsen, T., & Sjöholm, I. (2004). Influence of temperature, modified atmosphere packaging, and heat treatment on aroma compounds in broccoli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1607-1614.
- Lee, J. E., Bae, I. Y., Lee, H. G., & Yang, C. B. (2006). Tyr-Pro-Lys, an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from broccoli (*Brassica oleracea* Italica). *Food chemistry*, 99, 143-148.
- Lee, Y. K., Ganesan, P., & Kwak, H. S. (2013). Properties of milk supplemented with peanut sprout extract microcapsules during storage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26, 1197.
- Li, G.-H., Le, G.-W., Shi, Y.-H., & Shrestha, S. (2004). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*, 24, 469-486.
- Li, G.-H., Liu, H., Shi, Y.-H., & Le, G.-W. (2005). Direct spectrophotometric measurement of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity for screening bioactive peptides. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37, 219-224.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 134, 3479S-3485S.
- Krumbein, A., Schonhof, I., & Brückner, B. (2006). Flavour and health-promoting compounds in broccoli and cauliflower—an inconsistency?. *Developments in food science*, 43, 249-252.
- Marques, L. G., Ferreira, M. C., & Freire, J. T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia*

- glabra* L.). *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46, 451-457.
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2003). Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7266-7270.
- Mertz, C., Gancel, A. L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., & Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 381-387.
- Morton, J. F. (1987). Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam., *Solanum angulatum* Lam.). p. 425-428. En: *Fruits of Warm Climates*. Miami, FL: Julia F. Morton.
- Murillo, E., Meléndez-Martínez, A. J., & Portugal, F. (2010). Screening of vegetables and fruits from Panama for rich sources of lutein and zeaxanthin. *Food Chemistry*, 122, 167-172.
- Mosquera, R. V., Rubiano, J. F. G., y Morera, M. P. Manual técnico cultivo de lulo. Disponible en: <http://huila.gov.co/documentos/M/manual%20tecnico%20del%20lulo%20en%20el%20Huila.pdf>. (Consultado Noviembre, 2016)
- Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6977–6985.
- Osorio, C., Duque, C., & Batista-Viera, F. (2003). Studies on aroma generation in lulo (*Solanum quitoense* Lam.): enzymatic hydrolysis of glycosides from leaves. *Food chemistry*, 81(3), 333-340.
- Osorio, C., Forero, D. P., & Carriazo, J. G. (2011). Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray-drying. *Food Research International*, 44, 1174–1181.
- Parra, R. (2011). Revisión : Microencapsulación de Alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín*, 63, 5669–5684
- Perez, R., & Gaonkar, A. G. (2014). Capítulo 41. Commercial applications of microencapsulation and controlled delivery in food and beverage products In: *Microencapsulation in the Food Industry*. Academic Press. pp. 543–549. San Diego, USA.
- Quek, S. Y., Chok, N. K., y Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process*

- Intensification*, 46, 386–392.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Riceevans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical & Biology Medicine*, 26, 1231–1237
- Revelo, D. (2014). *Microencapsulación de tomate de árbol (Solanum betaceum Cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos*. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia
- Revelo, D., & Osorio, C. (2014). Anthocyanin-rich microencapsulates development from tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav., red variety) by spray-drying. In *International Conference Science & Technology of Drying*. 1-6
- Rinayanti, A., Radji, M., Abdul, M. I., & Suyatna, F. D. (2013). Screening angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor activity of antihypertensive medicinal plants from Indonesia. *International Journal*, 4, 527-532
- Rosenberg, M., Kopelman, I. J., & Talmon, Y. (1985). A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Journal of Food Science*, 50, 139-144.
- Schiffirin, E. L. (2002). Vascular and cardiac benefits of angiotensin receptor blockers. *American Journal of Medicine*, 113, 409–418.
- Scott KJ (2001) detection and measurement of carotenoids by UV/VIS spectrophotometry In: Wrolstad RE (ed) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wiley, Chichester. Unit F2.2, pp 81.
- Sierra, S. R., & Vargas, F. J. A. (2015). Inteligencia de mercados para la cadena del lulo (*Solanum quitoense*). *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 3(2).
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Sobel, R., Gundlach, M., & Su, C. (2014). Novel concepts and challenges of flavor microencapsulation and taste modification. *Microencapsulation in the food industry: A practical implementation guide* (1st ed.), Elsevier, San Diego, USA, 421.
- Tonon, R. V., Brabet, C., y Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray dried acai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43, 907–914.
- Torruco-Uco, J. G., Domínguez-Magaña, M. A., Davila-Ortiz, G., Martínez-Ayala, A., Chel-Guerrero, L. A., & Betancur-Ancona, D. A. (2008). Péptidos antihipertensivos, una alternativa de tratamiento de origen natural: una revisión antihypertensive peptides,

- an alternative for treatment of natural origin: A Review. *CYTA-Journal of Food*, 6, 158-168.
- Valenzuela, G. M., Ruelas Q. G., Gómez C. G., Antúnez M. R., y Ramírez F. V. (1995). Jugo de vegetales deshidratado por aspersión. *Tecnología de Alimentos*. México. 30: 34-40
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823.
- Vermeirssen, V., Van Camp, J., & Verstraete, W. (2002). Optimisation and validation of an angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 51, 75–87.
- Villacrez, J. L., Carriazo, J. G., & Osorio, C. (2014). Microencapsulation of Andes berry (*Rubus glaucus* Benth.) aqueous extract by spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 1445-1456.
- Xie, Y., Wang, A., Lu, Q., y Hui, M. (2010). The effects of rheological properties of wall materials on morphology and particle size distribution of microcapsule. *Czech Journal of Food Science*. Vol, 28, 433-439.
- Yang, Y., Marczak, E. D., Yokoo, M., Usui, H., & Yoshikawa, M. (2003). Isolation and antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from spinach Rubisco. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4897-4902.
- Yang, Y., Marczak, E. D., Usui, H., Kawamura, Y., & Yoshikawa, M. (2004). Antihypertensive properties of spinach leaf protein digests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2223-2225..
- Zapata, S., Piedrahita, A. M., & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16, 25-36.

A. Anexo: Formato de prueba de aceptación

Fecha _____

INSTRUCCIONES

Frente a usted se presentan tres muestras de una bebida de Lulo. Por favor marque con una (x) sobre la escala, según su aceptación.

Código de la muestra _____
Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____
Me disgusta extremadamente _____

Código de la muestra _____
Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____
Me disgusta extremadamente _____

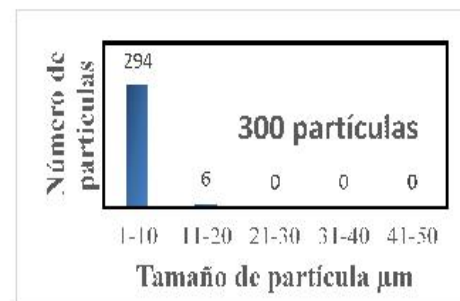
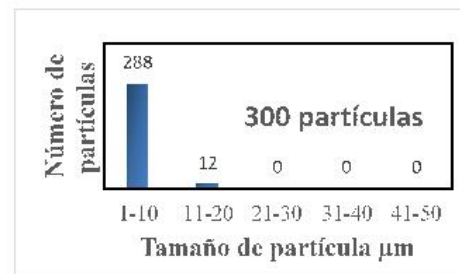
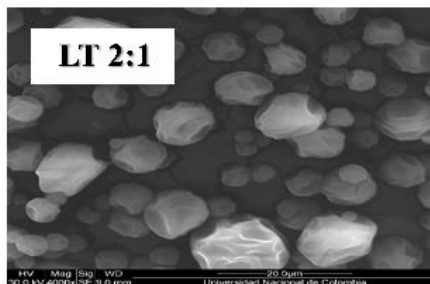
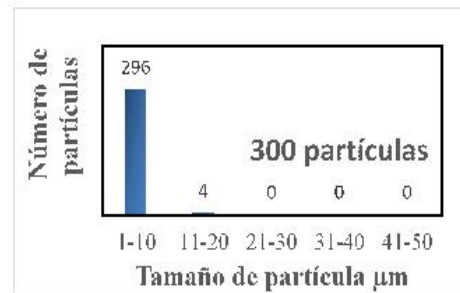
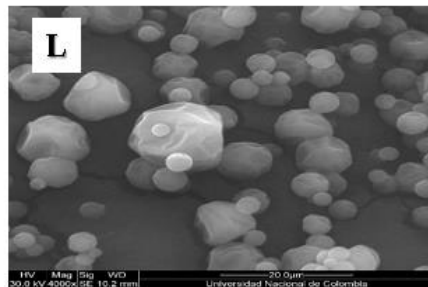
Código de la muestra _____
Me gusta extremadamente _____
Me gusta mucho _____
Me gusta ligeramente _____
Ni me gusta ni me disgusta _____
Me disgusta ligeramente _____
Me disgusta mucho _____
Me disgusta extremadamente _____

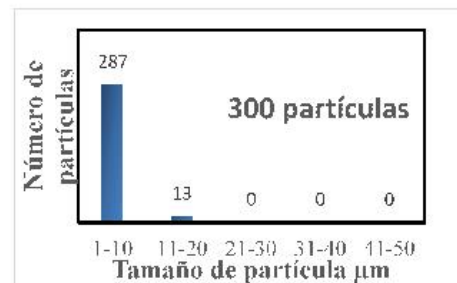
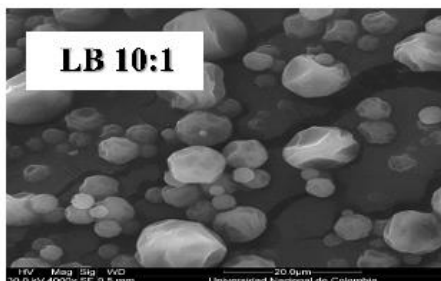
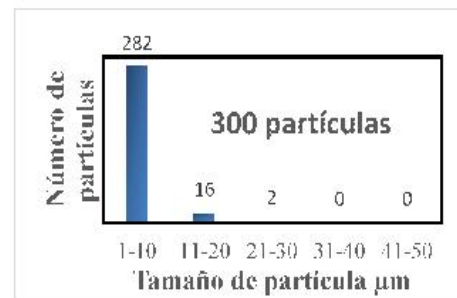
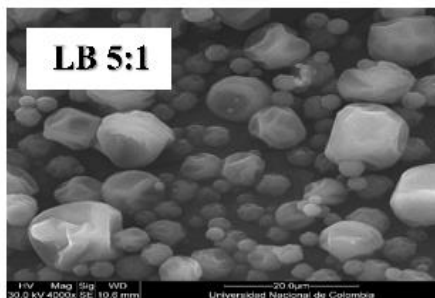
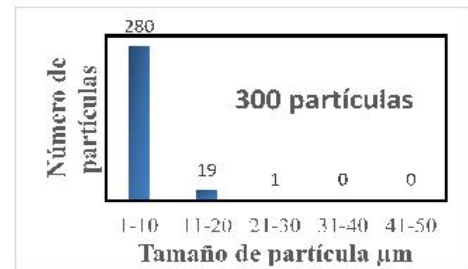
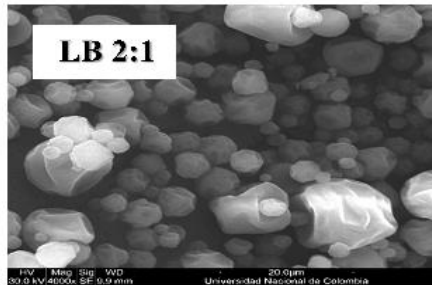
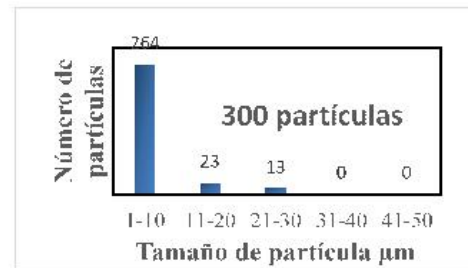
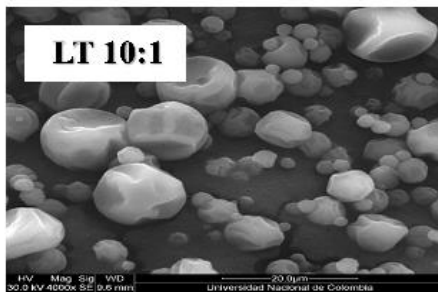
¿Cuál producto le gustó más? _____

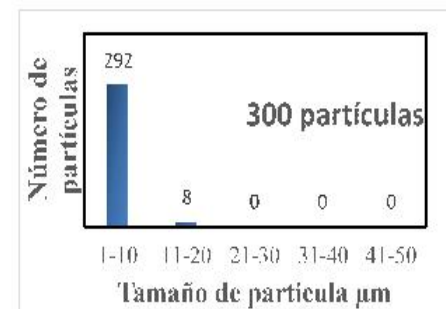
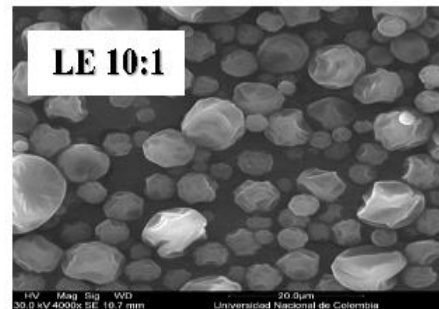
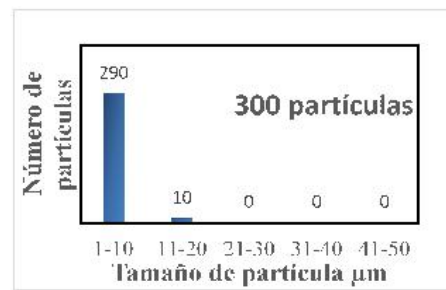
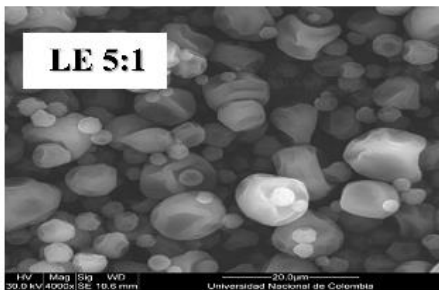
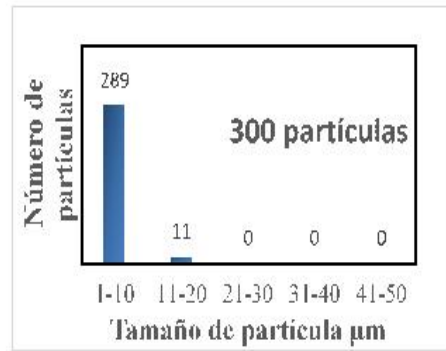
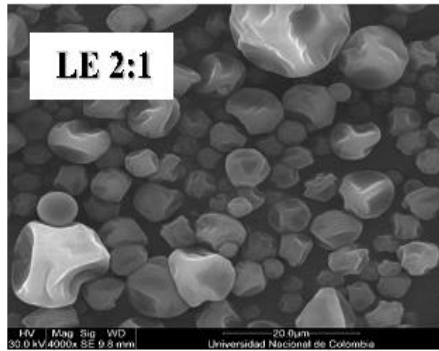
Comentarios _____

Gracias por su colaboración

B. Anexo: Micrografías de los microencapsulados de lulo y vegetales por SEM y gráficos de distribución de partícula.







C. Anexo: Resultados de análisis sensorial

REPORTE DE RESULTADOS PRUEBAS DISCRIMINATIVAS

Tabla 1. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS PRUEBAS DISCRIMINATIVAS
HIPOTESIS PRUEBA ORDENACIÓN

HIPÓTESIS NULA: No existe diferencia significativa $p \leq 0.05$ entre las sumas de rangos de las muestras en atributo olor a lulo natural	HIPÓTESIS ALTERNATIVA: Existe diferencia significativa $p \leq 0.05$ entre las sumas de rangos de las muestras en olor a
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 2. SUMA DE RANGOS ORDENACIÓN OLOR A LULO NATURAL PRUEBA ORDENAMIENTO OLOR A LULO

CODIGO	466 LE10:1	649 LB 5:1	241 L	723 LB 2:1	511 LB 10:1
Sumatoria	R1=34	R2=15	R3=37	R4=19	R5=30
Convención	A	B	C	D	E

* Número interno del juez en el Laboratorio.

Calculo valor Friedman

$$F_{test} = 12 / j p (p+1) [R_{12} + R_{22} + R_{32} + R_{42} + R_{52}] - 3 j (p + 1)$$

Dónde:

J (Numero de jueces) =9

P (Numero de muestras) =5

$R_1^2 = 1156$

$R_2^2 = 225$

$R_3^2 = 1369$

$R_4^2 = 361$

$R_5^2 = 900$

α (nivel de significancia) =0.05

F tabla 4 =9,22

F test =16,27

Si $F_{test} > F$, de la Tabla 4. **Valores críticos (F) para prueba la prueba de Friedman** NTC 3930 primera actualización; H_0 es rechazado, por tanto Si existen diferencias consistentes entre los órdenes de los rangos de los productos.

En la prueba *Friedman* se concluyó que existen diferencias consistentes entre los órdenes de rangos de acuerdo con un criterio específico, para determinar qué productos son significativamente diferentes se calcula la diferencia mínima significativa (DMS)

$$DMS = z \sqrt{j \cdot p(p + 1) / 6}$$

Dónde:

α : (nivel de significancia) =0.05

$z = 1,96$

$j = 9$ jueces

$p =$ Numero de muestras (5)

DMS = 13.14

Si el valor absoluto de la diferencia observada entre las sumas de rangos de dos productos es igual o mayor a la DMS, se concluye que a los dos productos se les ha dado rangos significativamente diferentes.

Con un riesgo del 0,05 las diferencias entre A – B, A - D, B – C, B - E, y C - E, son significativas $p \leq 0.05$ en olor a lulo y las diferencias entre las sumas de sus rangos están descritas en la Tabla 3.

Tabla 3. DIFERENCIAS ENTRE LAS SUMAS DE RANGOS OLOR LULO

DIFERENCIA ENTRE LAS SUMAS DE RANGOS				DIFERENCIA
A-B	34-15	19	19	SI
A-C	34-37	-3	3	NO
A-D	34-19	15	15	SI
A-E	34-30	4	4	NO
B-C	15-37	-22	22	SI
B-D	15-19	-4	4	NO
B-E	15-30	-15	15	SI
C-D	37-19	18	18	SI
C-E	37-30	7	7	NO
D-E	19-30	-11	11	NO

Tabla 4. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS PRUEBAS DISCRIMINATIVAS

HIPÓTESIS NULA: No existe diferencia significativa $p \leq 0.05$ entre las sumas de rangos de las muestras en atributo sabor a lulo natural	HIPÓTESIS ALTERNATIVA: Existe diferencia significativa $p \leq 0.05$ entre las sumas de rangos de las muestras en sabor a lulo natural
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 5. SUMA DE RANGOS ORDENACIÓN SABOR A LULO NATURAL

PRUEBA ORDENAMIENTO SABOR A LULO					
CODIGO	466 LE10:1	649 LB 5:1	241 L	723 LB 2:1	511 LB 10:1
Sumatoria	R1=34	R2=21	R3=41	R4=13	R5=26
Convención	A	B	C	D	E

* Número interno del juez en el Laboratorio.

Cálculo valor Friedman

$$F_{test} = 12 / j p (p+1) [R_{12} + R_{22} + R_{32} + R_{42} + R_{52}] - 3 j (p + 1)$$

Dónde:

J (Numero de jueces) =9

P (Numero de muestras) =5

$$R1^2=1156$$

$$R2^2=441$$

$$R3^2=1681$$

$$R4^2=169$$

$$R5^2=676$$

α (nivel de significancia) =0.05

F tabla 4=9,22

F test =21,24

Si $F_{test} > F$, de la Tabla 4. **Valores críticos (F) para prueba la prueba de Friedman** NTC 3930 primera actualización; H_0 es rechazado, por tanto SI existen diferencias consistentes entre los órdenes de los rangos de los productos.

En la prueba *Friedman* se concluyó que existen diferencias consistentes entre los órdenes de rangos de acuerdo con un criterio específico, para determinar qué productos son significativamente diferentes se calcula la diferencia mínima significativa (DMS)

$$DMS = z \sqrt{j \cdot p(p + 1) / 6}$$

Dónde:

α : (nivel de significancia) =0.05

z =1,96

j =9 jueces

p = Numero de muestras (5)

DMS = 13.14

Si el valor absoluto de la diferencia observada entre las sumas de rangos de dos productos es igual o mayor a la DMS, entonces se concluye que a los dos productos se les ha dado rangos significativamente diferentes.

Con un riesgo del 0,05 las diferencias entre A – D, B – C, C - D, y C - E, son significativas $p \leq 0.05$ en sabor a lulo y las diferencias entre las sumas de sus rangos están descritas en la tabla 6.

Tabla 6. DIFERENCIAS ENTRE LAS SUMAS DE RANGOS SABOR LULO

DIFERENCIA ENTRE LAS SUMAS DE RANGOS				DIFERENCIA
A-B	34-21	13	13	NO
A-C	34-41	-7	7	NO
A-D	34-13	21	21	SI
A-E	34-26	8	8	NO
B-C	21-41	-20	20	SI
B-D	21-13	8	8	NO
B-E	21-26	-5	5	NO
C-D	41-13	28	28	SI
C-E	41-26	15	15	SI
D-E	13-26	-13	13	NO