

INFORME DE ORIGINALIDAD

El que suscribe asesor del trabajo de investigación/tesis, titulada **“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA”** presentado por el **Br. Jhoel Flores Alvarez**, con DNI N° **70403933**, de la Escuela Profesional de **Ingeniería Agroindustrial**, para optar el título profesional de **Ingeniero Agroindustrial**.

Informo que el documento ha sido sometido a revisión de originalidad, utilizando el software de control de similitud y detección de plagio Turnitin, conforme al reglamento vigente, verificándose un porcentaje de **7 % de similitud general**.

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto el reporte de software firmado.

Andahuaylas, 25 de noviembre del 2022



.....
Dr. Carlos Alberto Ligarda Samanez
Asesor de tesis
DNI N°: 31190026
ORCID: 0000-0001-7519-8355

INFORME DE ORIGINALIDAD

La que suscribe Co-asesora del trabajo de investigación/tesis, titulada **“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA”** presentado por el **Br. Jhoel Flores Alvarez**, con DNI N° **70403933**, de la Escuela Profesional **de Ingeniería Agroindustrial**, para optar el título profesional de **Ingeniero Agroindustrial**.

Informo que el documento ha sido sometido a revisión de originalidad, utilizando el software de control de similitud y detección de plagio Turnitin, conforme al reglamento vigente, verificándose un porcentaje de **7 % de similitud general**.

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto el reporte de software firmado.

Andahuaylas, 25 de noviembre del 2022

.....
MSc. Betsy Suri Ramos Pacheco
Co-Asesora de tesis
DNI N°: 44230647
ORCID: 0000-0002-0286-0632

Se adjunta:

1. Reporte firmado, generado por el software.

NOMBRE DEL TRABAJO

informe final Jhoel Flores Alvarez-terminado.docx

RECuento DE PALABRAS

20721 Words

RECuento DE CARACTERES

117794 Characters

RECuento DE PÁGINAS

118 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

18.8MB

FECHA DE ENTREGA

Nov 24, 2022 9:26 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Nov 24, 2022 9:28 PM GMT-5



● **7% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 7% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr



● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)



● **7% de similitud general**

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 7% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr

FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	docplayer.es Internet	1%
2	repositorio.unajma.edu.pe Internet	<1%
3	repositorio.unsa.edu.pe Internet	<1%
4	coursehero.com Internet	<1%
5	test-dr.com Internet	<1%
6	repositorio.unjbg.edu.pe Internet	<1%
7	dspace.ucuenca.edu.ec Internet	<1%
8	repositorio.lamolina.edu.pe Internet	<1%
9	hdl.handle.net Internet	<1%

Handwritten signature

Handwritten signature

Handwritten signature

10	upcommons.upc.edu Internet	<1%
11	repositorio.utc.edu.ec Internet	<1%
12	repositorio.unal.edu.co Internet	<1%
13	repositorio.puce.edu.ec Internet	<1%
14	1library.co Internet	<1%
15	portal.trt3.jus.br Internet	<1%
16	renati.sunedu.gob.pe Internet	<1%
17	vasodeprecipitado.com Internet	<1%
18	bibliotecadigital.exactas.uba.ar Internet	<1%
19	repositorio.une.edu.pe Internet	<1%
20	tabasco.gob.mx Internet	<1%
21	revistas.uladech.edu.pe Internet	<1%

Reporte de similitud

22	repositorio.unach.edu.pe Internet	<1%
23	repositorio.unap.edu.pe Internet	<1%
24	vsip.info Internet	<1%
25	siis.unmsm.edu.pe Internet	<1%
26	nanopdf.com Internet	<1%
27	unmsm.edu.pe Internet	<1%

"
[Handwritten signature]

"
[Handwritten signature]

"
[Handwritten signature]

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Presentado por: Br. JHOEL FLORES ALVAREZ

**“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO
EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA”**

Asesor: Dr. CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ

Co-Asesor: MSc. BETSY SURI RAMOS PACHECO

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

ANDAHUAYLAS – APURÍMAC - PERÚ

2022



APROBACIÓN DEL ASESOR

Quien suscribe:

Dr. CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ por la presente:

CERTIFICA

Que, el bachiller en Ingeniería Agroindustrial, JHOEL FLORES ALVAREZ ha **culminado satisfactoriamente el informe final de tesis intitulado:**

“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA” para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 03 de noviembre del 2022



Dr. Carlos Alberto Ligarda Samanez
Asesor



Jhoel Flores Alvarez
Tesisista



APROBACIÓN DEL CO-ASESOR

Quién suscribe:

MSc. BETSY SURI RAMOS PACHECO, por la presente:

CERTIFICA

Que, el bachiller en Ingeniería Agroindustrial, JHOEL FLORES ALVAREZ ha **culminado satisfactoriamente el informe final de tesis intitulado:**

“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA” para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 03 de noviembre del 2022

MSc. Betsy Suri Ramos Pacheco

Co-asesor

Jhoel Flores Alvarez

Tesista



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



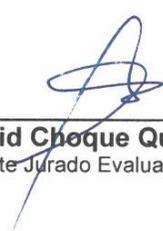
En la: Av. 28 de Julio N° 1103 del Local Académico de la Universidad Nacional José María Arguedas ubicado en el distrito de Talavera, de la Provincia de Andahuaylas; siendo las 10:00 a.m del día 11 de noviembre del año 2022, se reunieron los docentes ordinarios: **Mag. David Choque Quispe; Mag. Fredy Taipe Pardo, Mag. Henry Palomino Rincón**, en condición de integrantes del Jurado Evaluador del Informe Final del Tesis intitulado:

“NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA”, cuyo autor es el Bachiller en: INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL; **FLORES ALVAREZ JHOEL** y Asesor, **Msc Carlos Alberto Ligarda Samanez; Co asesora Msc. Betsy Suri Ramos Pacheco**, con el propósito de proceder a la sustentación y defensa de dicha tesis.

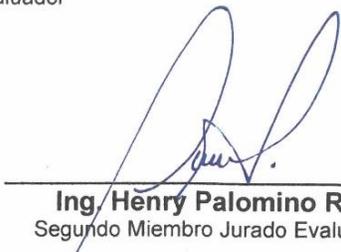
Luego de la sustentación y defensa de la Tesis, el Jurado Evaluador **ACORDO:** Aprobar por unanimidad al Bachiller en **Ingeniería Agroindustrial, FLORES ALVAREZ JHOEL**, obteniendo la siguiente calificación y mención:

Nota en escala vigesimal		Mención
Números	Letras	
19	Diecinueve	Excelente

En señal de conformidad, se procede a la firma de la presente acta en 03 ejemplares.


Mag. David Choque Quispe
Presidente Jurado Evaluador


Msc. Fredy Taipe Pardo
Primer Miembro Jurado Evaluador


Ing. Henry Palomino Rincón
Segundo Miembro Jurado Evaluador



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



APROBACIÓN DEL JURADO EVALUADOR

La tesis “NANOENCAPSULACIÓN DE PROPÓLEO PURIFICADO EN MATRICES DE GOMA ARÁBIGA Y MALTODEXTRINA”; para optar el Título profesional de Ingeniero Agroindustrial, ha sido evaluado por el jurado dictaminador conformado por:

Presidente: Dr. David Choque Quispe

Primer miembro: Msc. Fredy Taipe Pardo

Segundo miembro: Msc. Henry Palomino Rincón

Habiendo sido aprobado por unanimidad, en la ciudad de Talavera el día 11 de noviembre del 2022.

Andahuaylas, 18 de noviembre del 2022

Atentamente,

.....
Dr. David Choque Quispe
Presidente del jurado dictaminador

.....
Msc. Fredy Taipe Pardo
Primer miembro del jurado dictaminador

.....
Msc. Henry Palomino Rincón
Segundo miembro del jurado dictaminador

DEDICATORIA

*El presente trabajo de investigación lo dedico a Dios por darme vida y una maravillosa familia, quienes me guiaron y educaron de la mejor manera para lograr mi sueño de ser profesional, a mis queridos abuelitos **Alejandro y Julia** a quienes les debo todo lo que hoy en día soy, a mis padres **Wilfredo y Fidelia** que me apoyaron incondicionalmente.*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Wilfredo y Fidelia quienes me dieron la vida y educaron con mucho esfuerzo, a mis abuelitos Alejandro y Julia que siempre me alentaron y apoyaron incondicionalmente.

A la Universidad Nacional José María Arguedas y muy en particular a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial dirigida por diversos profesionales quienes me dieron todas las facilidades y servicios para desarrollarme como estudiante.

Al Dr. Carlos Alberto Ligarda Samanez y MSc. Betsy Suri Ramos Pacheco, asesores que compartieron sus conocimientos y encaminaron de la mejor manera este trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Investigación de Nanotecnología (LINA), operado por la Ing. Elibet Moscoso Moscoso especialista en el manejo de diferentes equipos, quien me brindó todas las facilidades para realizar el presente trabajo de investigación.

Al Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y Medioambientales (CITBM) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, quienes me brindaron todas las facilidades para acceder a sus instalaciones para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A los Catedráticos que prestan servicios en la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por compartir sus experiencias y conocimientos, a nivel de aula y laboratorio.

A los Jurados evaluadores, Dr. David Choque Quispe, Mg. Fredy Taipe Pardo y Mg. Henry Palomino Rincón, por brindarme sus conocimientos y también por contribuir en realizar de la mejor manera el presente trabajo de investigación.

A mis compañeros de estudios Yésica, Fresia, Rafael, Carlos Daniel, Ceyli y Fiorela con quienes compartí conocimientos, momentos gratos y me alentaron a seguir adelante.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL ASESOR.....	II
APROBACIÓN DEL CO-ASESOR	III
COPIA DE ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	IV
APROBACIÓN DEL JURADO EVALUADOR.....	V
DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTOS	VII
ÍNDICE DE CONTENIDOS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
RESUMEN	1
ABSTRAC	2
CHUMASQA.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
CAPITULO I: PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.1. Situación problemática.	5
1.2. Formulación del problema.....	6
1.2.1. Problema general	6
1.2.2. Problemas específicos	6
1.3. Justificación de la investigación	7
1.4. Objetivos de la investigación	8
1.4.1. Objetivo general	8
1.4.2. Objetivos específicos.....	8
1.5. Formulación de la hipótesis.....	8

1.5.1. Hipótesis general.....	8
1.5.2. Hipótesis específica	8
CAPITULO II: ANTECEDENTES.....	10
2.1. Antecedentes internacionales	10
2.2. Antecedentes nacionales	16
CAPITULO III: MARCO TEÓRICO.....	17
3.1.1. Propóleo.....	17
3.1.2. Propóleo purificado	19
3.1.3. Encapsulación	19
3.1.4. Nanoencapsulación y microencapsulación.....	20
3.1.5. Secado por Aspersión	21
3.1.6. Materiales encapsulantes.....	21
3.1.7. Matriz de Maltodextrina	22
3.1.8. Matriz de Goma Arábica.....	22
3.1.9. Compuestos fenólicos	22
3.1.10. Capacidad antioxidante	24
3.1.11. Flavonoides	25
3.1.12. Espectrofotometría por transformada de Fourier (FTIR)	26
3.1.13. Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	27
3.1.14. Rendimiento en encapsulados	27
3.1.15. Colorimetría.....	27
3.1.16. Actividad de agua (<i>aw</i>).....	28
3.1.17. Humedad.....	29
3.1.18. Dispersión dinámica de luz (DLS)	29
3.2. Marco conceptual.....	30

CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	32
4.1. Lugar de ejecución	32
4.2. Identificación de las variables.....	32
4.2.1. Variables independientes y dependientes	32
4.3. Materiales, instrumentos y equipos	32
4.4. Población y muestra	35
4.4.1. Población.....	35
4.4.2. Muestra	35
4.4.3. Unidad de análisis	37
4.5. Tipo de investigación.....	37
4.6. Metodología experimental	37
4.7. Métodos de análisis.....	42
4.8. Diseño experimental (variable y pruebas estadísticas).	52
CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	55
5.1. Contenido de flavonoides totales, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en nanoencapsulados de propóleo	55
5.2. Rendimiento, humedad, actividad de agua y color.....	58
5.3. Grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula	61
5.4. Correlograma de Pearson	66
5.5. Diagrama de radar para nanoencapsulados	68
CAPITULO VI:	70
CONCLUSIONES:.....	70
RECOMENDACIONES:	71
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXOS	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Composición química del propóleo</i>	18
Tabla 2 <i>Materiales encapsulantes</i>	21
Tabla 3 <i>Clasificación de compuestos fenólicos</i>	24
Tabla 4 <i>Variables independientes y dependientes</i>	32
Tabla 5 <i>Materiales</i>	33
Tabla 6 <i>Instrumentos y equipos</i>	34
Tabla 7 <i>Reactivos</i>	35
Tabla 8 <i>Diluciones para concentración de ácido gálico</i>	43
Tabla 9 <i>Diluciones a diferentes concentraciones de trolox por DPPH</i>	45
Tabla 10 <i>Concentraciones de trolox para ABTS</i>	47
Tabla 11 <i>Concentraciones para flavonoides</i>	49
Tabla 12 <i>Tratamientos para DCA</i>	53
Tabla 13 <i>Contenido de flavonoides totales (mg quercetina/g)</i>	55
Tabla 14 <i>Contenido de compuestos fenólicos totales (mg ácido gálico equivalente/g)</i>	56
Tabla 15 <i>Capacidad antioxidante por DPPH (μmol de Trolox equivalente/g)</i>	57
Tabla 16 <i>Capacidad antioxidante ABTS (μmol de Trolox equivalente/g)</i>	58
Tabla 17 <i>Rendimiento expresado en %</i>	59
Tabla 18 <i>Contenido de Humedad en %</i>	59
Tabla 19 <i>Valores de actividad de agua</i>	60
Tabla 20 <i>Resumen estadístico para color</i>	61
Tabla 21 <i>Tamaño de partícula nanoencapsulados</i>	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Estructura de un material encapsulado</i>	19
Figura 2 <i>Estructura de los compuestos fenólicos</i>	23
Figura 3 <i>Estructura básica y tipos de flavonoides</i>	25
Figura 4 <i>Estructura de diferentes tipos de flavonoides</i>	26
Figura 5 <i>Actividad de agua en alimentos</i>	29
Figura 6 <i>Lugares de recolección de los propóleos</i>	36
Figura 7 <i>Diagrama de flujo para la purificación de propóleo</i>	39
Figura 8 <i>Diagrama de flujo para nanoencapsulamiento de propóleo purificado</i>	41
Figura 9 <i>Espectros IR para nanoencapsulados de propóleo</i>	62
Figura 10 <i>Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado Huinchos</i>	64
Figura 11 <i>Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado Chaccamarca</i>	64
Figura 12 <i>Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado Cuncataca</i>	65
Figura 13 <i>Correlograma de Pearson para propiedades de los nanoencapsulados de propóleo</i>	68
Figura 14 <i>Diagrama de radar para propiedades estudiadas</i>	69

Abreviaturas

AEP : extracción acuosa de propóleo

ABTS : 2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid)

a_w : actividad de agua

cP : centipoises

CAE : equivalentes de ácido clorogénico

DCA : diseño experimental completamente al azar

DLS : dispersión dinámica de luz

DPPH : radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo

EEP : extracción etanólica de propóleo

FTIR : espectrofotometría por transformada de Fourier

GAE : equivalente de ácido gálico

g : gramos

IR : infrarrojo

KBr : bromuro de potasio

kV : kilo voltios

L : litro

LSD : diferencia mínima significativa (en inglés Least significant difference)

mg : miligramos

mL : mililitro

mm : milímetros

mM : milimolar

N : normalidad
nm : nanómetros
PP : propóleo purificado
rpm : revoluciones por minuto
SEM : microscopía electrónica de barrido
t : toneladas
 μ L : microlitro
 μ M : micro mol
 μ m : micrómetros

RESUMEN

El propóleo es un sub producto creado por las abejas a partir de resinas y exudados, presenta una composición química rica en compuestos fenólicos. El objetivo del estudio fue evaluar las propiedades de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina. Para tal propósito se recolectaron propóleos provenientes de Cuncataca, Chaccamarca y Huinchos de la provincia de Andahuaylas, estos fueron purificados en medio etanólico al 80% para la inmersión en medios encapsulantes. Se realizó secado por aspersion en el equipo nano Spray Dryer B-90 Buchi para obtener el nanoencapsulado de propóleo en forma de polvo. Se determinó el contenido de flavonoides totales, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante, rendimiento, humedad, actividad de agua, color, grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en los nanoencapsulados de propóleo.

Los flavonoides totales variaron entre 1.81 y 2.26 mg de quercetina/g de muestra, los compuestos fenólicos totales mostraron valores entre 1.76 y 3.38 mg de ácido gálico equivalente/g de muestra, la capacidad antioxidante por DPPH fue de 10.33 y 12.55 μmol de trolox equivalente/g de muestra y por ABTS osciló entre 1.03 y 2.33 μmol de trolox equivalente/g de muestra, el rendimiento de encapsulación varió entre 61.27 y 69.40 %, la humedad presentó valores entre 4.93 y 6.26 %, la actividad de agua estuvo en los rangos de 0.24 y 0.30, para el color se tuvo luminosidad que varió entre 91.48 y 92.25, los espectros IR mostraron picos intensos con la presencia del grupo hidroxilo, grupo carbonilo, que indican la presencia de agua, carbohidratos, compuestos fenólicos, compuestos antioxidantes y flavonoides. Las microfotografías estructurales mostraron la formación de esferas heterogéneas con tamaños de partícula que variaron de 204.4 a 266.7 nm.

Se concluye que el nanoencapsulado proveniente de Cuncataca presentó mejores propiedades, lo que permitiría su potencial uso en la industria alimentaria.

Palabras clave: propóleo, nanoencapsulado, flavonoides, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante.

ABSTRAC

Propolis is a by-product created by bees from resins and exudates, it has a chemical composition rich in phenolic compounds. The objective of the study was to evaluate the properties of purified propolis nanoencapsulates in matrices of gum arabic and maltodextrin. For this purpose, propolis from Cuncataca, Chaccamarca and Huinchos in the province of Andahuaylas were collected, these were purified in 80% ethanolic medium for immersion in encapsulating media. Spray drying was carried out in the Buchi nano Spray Dryer B-90 equipment to obtain the nanoencapsulated propolis in powder form. The content of total flavonoids, total phenolic compounds, antioxidant capacity, yield, moisture, water activity, color, functional groups, structural photomicrographs and particle size in the propolis nanoencapsulates were determined.

Total flavonoids varied between 1.81 and 2.26 mg of quercetin/g of sample, total phenolic compounds showed values between 1.76 and 3.38 mg of gallic acid equivalent/g of sample, antioxidant capacity by DPPH was 10.33 and 12.55 μmol of trolox equivalent. /g of sample and by ABTS ranged between 1.03 and 2.33 μmol of equivalent trolox/g of sample, the yield varied between 61.27 and 69.40%, the humidity presented values between 4.93 and 6.26%, the water activity was in the range of 0.24 and 0.30, for the color there was luminosity that varied between 91.48 and 92.25, the IR spectra showed intense peaks with the presence of the hydroxyl group, carbonyl group, which indicate the presence of water, carbohydrates, phenolic compounds, antioxidant compounds and flavonoids. Structural photomicrographs showed the formation of heterogeneous spheres with particle sizes ranging from 204.4 to 266.7 nm.

It is concluded that the nanoencapsulated from Cuncataca presented better properties, which would allow its potential use in the food industry.

Keywords: propolis, nanoencapsulated, flavonoids, phenolic compounds, antioxidant capacity.

CHUMASQA

Propóleo nisqaqa kasqa subproducto abejakunapa kamasqan, resina chaymanta exudados nisqanmanta, huk composición química nisqayuqmi qhapaq compuestos fenólicos nisqawan. Kay yachaypa munayninqa karqa chaninchay kay nanoencapsulados de propóleo purificado kay matrices de goma arábica maltodextrina. Chaypaqmi huñurqanim propóleos Cuncataca, Chaccamarca hinaspa Huinchos Ilaqtakunamanta provincia Andahuaylasmanta, chaykunatam churakurqan medio etanólico 80% nisqapi, kaqmanta medios encapsulantes nisqapi challpunankupaq. Kay chakichiyqa ruwakurqa nano Spray Dryer B-90 Buchi equipo nisqawan, chaymantaqa nanoencapsulado propóleo nisqanmanta polvo nisqapi tarikurqa. Chay contenido de flavonoides totales, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante, rendimiento, humedad, actividad de agua, color, grupos funcionales, microfotografías estructurales, tamaño de partícula nisqakuna tarikurqa kay polvo hurqusqamanta.

Contenido de flavonoides totales chayarqa 1,81 hinataq 2,26 mg de quercetina/g de muestra, chaymanta compuestos fenólicos totales chayarqa 1,76 hinataq 3,38 mg equivalente de ácido gálico/g de muestra, capacidad antioxidante DPPH nisqanmanta karqa 10,33 hinataq 12,55 μmol de trolox equivalente/g de muestra, chaymanta ABTS karqa 1,03 hinataq 2,33 μmol de trolox equivalente/g de muestra, chay rendimiento tikrarqa 61,27 hinataq 69,40%, hinaspa humedad chayarqa 4,93 hinataq 6,26%, chay actividad yakumanta kasqa 0,24 y 0,30, chay llimpim challarqa yaqa yuraq kaynimpí, chaninmi kasqa 91,48 hinataq 92,25 chaniyuq, chaymanta espectros IR nisqanmanta qawarichirqaku ancha munay picos nisqakunata chay grupo hidroxilo, carbonilo, yaku, carbohidratos, compuestos fenólicos, compuestos antioxidantes hinataq flavonoides kasqa. Kay microfotografías estructurales qawarichirqaku achka ruyrukunata, sayayninqa karqa 204,4 hinataq 266,7 nm, Tukunapaq, chay nanoencapsulado propóleo Cuncatacamanta aswan allin karqa, tukuy ima ruranapaq kay mikuy industria nisqampaq. **Tiksi rimaykuna:** própolis, nanoencapsulado, flavonoides, compuestos fenólicos, antioxidante atiy.

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país con gran diversidad biológica que permite el buen desarrollo de la apicultura, mediante esta actividad se logra producir miel, jalea, polen, cera y propóleo.

El objetivo fue evaluar las propiedades del propóleo nanoencapsulado, debido al incremento de este producto en la región y porque posee una composición química alta en compuestos fenólicos que son beneficiosos para la salud (Soleimanifard et al., 2021; Bodini et al., 2013; Chaillou y Nazareno, 2009), logrando tener resultados comparables con diversos reportes internacionales.

La presente investigación de nanoencapsulación del propóleo está compuesta por el capítulo I, que trata sobre la situación problemática, formulación del problema, justificación, objetivos e hipótesis de la investigación, cuyo propósito fue identificar y generar una nueva alternativa de solución al problema, el capítulo II muestra los antecedentes recopilados sobre el estudio de propóleo encapsulado y crudo que fueron importantes para obtener información y comparar con los resultados obtenidos, en el capítulo III se encuentran todas las teorías y conceptos de la investigación que servirán para el mejor entendimiento del lector, el capítulo IV hace mención al lugar de ejecución, identificación de las variables, materiales, instrumentos, equipos, población y muestra, tipo de investigación, metodología experimental, los métodos de análisis y diseño experimental de la investigación que forman parte de la metodología de la investigación, en el capítulo V se muestran los resultados obtenidos de flavonoides totales, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante, rendimiento, humedad, actividad de agua, color, espectrofotometría por transformada de Fourier, microfotografías estructurales, tamaño de partícula de los nanoencapsulados de propóleos con sus respectivas discusiones.

Finalmente, en el capítulo VI se hace mención a las conclusiones en respuesta a los objetivos, recomendaciones para futuras investigaciones, bibliografías y los anexos del trabajo de investigación.

CAPITULO I: PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Situación problemática.

La apicultura en el Perú está sujeta a la diversidad de plantas y climas que permiten la producción de miel, jalea real, polen, cera y propóleo, es así que para el año 2020 se tuvo más de 300 mil colmenas en producción, 2314 toneladas de miel y alrededor de 40 mil productores apícolas en actividad. De acuerdo al Ministerio Agricultura (2015) la región de Apurímac se ubicó en el quinto lugar con 15614 colmenas en producción, de esta manera la producción de propóleo viene creciendo paralelamente, pero según el Ministerio de comercio exterior y turismo (2008), más del 95% de apicultores solo le dan énfasis a la producción de miel, teniendo desconocimiento del potencial uso del propóleo.

El propóleo es un sub producto recolectado por las abejas a partir de resinas y exudados de las plantas, presenta gran variedad de propiedades por su composición química, ha demostrado ser muy favorable para la salud por ser buen antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorio, cicatrizante, anestésico, anticariogénico, antiviral y anticancerígeno debido a la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos (Soleimanifard et al., 2021; Bodini et al., 2013; Chaillou y Nazareno, 2009). Sin embargo, su uso es limitado por los consumidores e industrias debido a su alta perecibilidad, baja tasa de disolución, biodisponibilidad, alta sensibilidad y sabor amargo, dejando de lado la bioactividad de este producto (Soleimanifard et al., 2021).

La encapsulación por atomización es una técnica muy usada para la producción de alimentos en polvo (Flaquer-Florez et al., 2016). Es buena opción para reducir algunas características sensoriales indeseables, también ayuda a proteger la bioactividad y amplía su dosificación, a través de una matriz de encapsulación soluble en agua (Da silva et al., 2013; Bruschi et al., 2003). Para ello, es importante contar con un material de pared, con adecuadas propiedades fisicoquímicas, las cuales son fundamentales debido a que los compuestos son sensibles a condiciones ambientales adversas (Jafari et al., 2008). Cabe resaltar, que los compuestos bioactivos, casi siempre tienen muy baja solubilidad y biodisponibilidad,

debido a que son hidrofóbicos. De esta manera, el secado por atomización contribuye a mejorar la solubilidad y absorción de los compuestos flavonoides (Di Battista et al., 2015; Fujimori et al., 2016). Es así que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina, con la finalidad de obtener un polvo rico en compuestos fenólicos y flavonoides que despierte el interés de las industrias para futuras aplicaciones en alimentos.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cómo será el comportamiento de la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cómo es el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?

¿Cómo es el rendimiento, humedad, actividad de agua y color en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?

¿Cómo son los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?

1.3. Justificación de la investigación

La apicultura en el Perú es una actividad económica de muchas familias, de este modo la producción de miel, jalea real, polen, cera y propóleo generan ingresos económicos. Por otro lado, Apurímac se sitúa en el quinto lugar por crianza de colmenas, es por esto que surge el interés de estudiar el propóleo y dar a conocer a la población su gran valor.

Como se indicó en el problema, el propóleo presenta una composición química notable, que favorece a la salud humana por la presencia de compuestos fenólicos, es buen antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorio, cicatrizante, anestésico, anticariogénico, antiviral y anticancerígeno (Soleimanifard et al., 2021; Bodini et al., 2013; Chaillou y Nazareno, 2009). También, presenta baja tasa de disolución, biodisponibilidad, alta percibibilidad, alta sensibilidad y sabor amargo (Soleimanifard et al., 2021).

Según Sharifi et al. (2015) la encapsulación es bastante usada y económica, ayuda a disminuir el deterioro de biocompuestos y es característico usar una matriz para apresar las sustancias sensibles, formando barrera que ayuda a reducir su pérdida, incrementado la estabilidad y biodisponibilidad. Cabe señalar que, en tecnología de alimentos, se usa la encapsulación con el propósito de enmascarar los sabores desagradables (Gouin, 2004).

En base a este argumento se pretende realizar la nanoencapsulación de propóleo, para obtener un polvo muy fino, que sirva como material de estudio.

De este modo, innovar el mercado a través del nanoencapsulado, para mejorar su presentación y atributos que permitan enmascarar esas características indeseables, así generar mayores ingresos económicos a nuestros apicultores de la región y despertar el interés de industrializarlos, es por eso que nace la idea de poder nanoencapsular al propóleo.

Desde el punto de vista metodológico, se pretende evidenciar información sobre la nanotecnología incorporada en alimentos, para futuros estudios dentro de la región y el país.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el comportamiento de la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.

1.4.2. Objetivos específicos

Determinar el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.

Determinar el rendimiento, humedad, actividad de agua y color en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.

Determinar los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.

1.5. Formulación de la hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

Los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.

1.5.2. Hipótesis específica

El contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.

El rendimiento, humedad, actividad de agua y color de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.

Los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina provenientes de Chaccamarca presentan diversos grupos funcionales, adecuada morfología y tamaño de partícula a nivel nanométrico.

CAPITULO II: ANTECEDENTES

2.1. Antecedentes internacionales

Pant et al. (2022), estudiaron la optimización de la encapsulación de propóleo en la India, el objetivo de esta investigación fue desarrollar un polvo de propóleo encapsulado rico en polifenoles, sin alcohol y secado al vacío, con la finalidad de enmascarar el sabor amargo y astringente de este tipo de productos; para tal efecto, recolectaron 30 muestras de propóleo de 4 lugares distintos, las cuales fueron disueltas en etanol al 70 % y colocadas en un ultrasonido para posteriormente ser filtradas, los extractos se mezclaron con maltodextrina, que lo trataron en un rota vapor con la finalidad de eliminar el exceso de etanol, finalmente lo secaron al vacío a una temperatura que osciló entre 30 y 50 °C, para luego realizar molienda y obtener un polvo fino. Las propiedades que estudiaron fueron: densidad, color, solubilidad, higroscopicidad, grupos funcionales, propiedades termales, humedad, actividad de agua, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Evidenciaron resultados de compuestos fenólicos totales entre (20.98 – 30.91 mg GAE/g), la luminosidad de sus encapsulados fue (66.13 – 74.85), también bajó la luminosidad al aumentar su concentración y temperatura. Además, los polvos de propóleo que encapsularon presentaron una alta eficiencia en la encapsulación, en cuanto al análisis térmico se mostró que los compuestos fenólicos estaban bien conservados en el producto, demostrando un potencial funcional y nutraceutico.

El aporte de la presente investigación contribuyó a entender mejor el proceso de obtención del propóleo purificado y conocer las propiedades más importantes de este estudio.

Šturm et al. (2019), estudiaron la encapsulación de propóleos no descerados procedentes de Eslovenia, el objetivo de esta investigación fue lograr atomizar propóleo no descerado por liofilización y secado por aspersion, para que obtengan un polvo con alto nivel en compuesto fenólicos. Para esta investigación los insumos que utilizaron fueron extracto de propóleo de álamo al 70%, en alcohol al 96%, goma arábica, maltodextrina e inulina. Las matrices encapsulantes lo prepararon por individual y por combinación para ver el efecto de estas, seguidamente combinaron

con propóleo a diferentes concentraciones. Fueron pasados por baños ultrasónicos durante 10 minutos y seguidamente homogenizaron a 1600 rpm por 2 minutos, seguidamente centrifugaron a 250 de fuerza centrífuga, también utilizaron sin centrifugar. Los sobrenadantes que obtuvieron mediante la centrifugación fueron retirados y procedieron a liofilizar y secar por aspersion. Presentaron los siguientes valores, de extracto de propóleo al 25%, 101.7 ± 11.7 mg CAE/g de compuestos fenólicos totales, los encapsulados tuvieron valores de 63.2 ± 1.4 mg CAE/g de compuestos fenólicos, actividad antioxidante de 43.9 ± 2.5 mg CAE/g, tamaño de partícula de 3 ± 2.6 μm y actividad de agua (A_w) 0.072 ± 0.003 . En este trabajo de investigación afirman que los métodos de liofilización y secado por aspersion permiten lograr extraer propóleo en polvo, con alto nivel de compuesto fenólicos encapsulados, alto nivel de actividad oxidante, también la goma arábica fue la mejor pared de encapsulación, sin embargo, esta tiene costo alto y hay que tomarlo en cuenta.

Este trabajo aportó información en cuanto a rendimiento, microscopía electrónica de barrido, actividad antioxidante (DPPH) y fenoles totales.

Catchpole et al. (2018), estudiaron propóleos procedentes de Nueva Zelanda, tuvieron como objetivo evaluar la función que tiene el propóleo contra el cáncer gastrointestinal, además de ello realizaron con la finalidad de mejorar la aceptabilidad de este en el mercado por su sabor y aroma picante. Formularon el propóleo en complejos de ciclodextrina, por lo que hicieron pruebas in vitro, usando ensayos humanos anti-cáncer gastrointestinal, antiinflamatorios y antioxidantes. Los procedimientos que realizaron inició al extraer los propóleos en etanol, seguidamente realizaron la formación de complejos de propóleo – ciclodextrina, donde estos fueron mezclados según su formulación, seguidamente enfrascaron y pusieron en un baño acetona/hielo, donde se congelaron para luego ser liofilizados. Los resultados que reportaron muestran la presencia de buena capacidad antioxidante, además de ello presentan un potencial beneficioso para la salud gastrointestinal.

El aporte de este trabajo de investigación para este proyecto de tesis, fue evidenciar que los métodos de encapsulación son importantes también para poder enmascarar algunas características indeseables de productos.

Busch et al. (2017), estudiaron las características y estabilidad del encapsulado de propóleo por atomización, este trabajo lo realizaron en la universidad de buenos aires, tuvieron como objetivo de estudio encapsular propóleos, usaron matrices de maltodextrina y gomas añadidas para poder verificar las características fisicoquímicas, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos. Además, pretendieron mejorar la baja solubilidad en agua y malos sabores. Realizaron el secado por aspersion de la siguiente manera: primeramente, purificaron el propóleo cuya muestra fue 14 g. de propóleo en 100 mL de etanol, pusieron en agitación por 24 horas, luego filtraron, seguidamente pusieron a un congelador por un tiempo de 10 horas a 20 °C y finalmente fueron centrifugadas a 4500 rpm a 5 °C durante 10 minutos. Prosiguieron a extraer y purificar la goma vinal, después prepararon 30 g de maltodextrina y 0.3 g goma arábica en 100 mL de agua bidestilada, estas fueron agitadas a 500 rpm durante 24 horas. Continuaron con la homogenización mediante un ultra-turrax a 15000 rpm por 2 minutos. Finalmente agregaron 10 mL de extracto de propóleo y nuevamente homogenizaron en el ultra-turrax por 2 minutos, luego filtraron para evitar obstrucciones en el atomizador. Los estudios que realizaron fueron actividad antioxidante, SEM, rendimiento y actividad de agua, los resultados que obtuvieron para SEM mostraron tener forma esférica deformadas con extensas superficies abolladas, la matriz no tuvo fisuras y se puede decir que es una buena barrera de protección para el material, encontraron gran poder reductor de actividad antioxidante con la adición de goma arábica, que ayuda a cuidar los compuestos bioactivos, rendimiento de 68%, en cuanto a quercetina que hace referencia al contenido de flavonoides obtuvieron 9.1 ± 0.2 mg/g de propóleo, los mejores valores de actividad de agua fue 0.52, tuvieron contenido de fenoles totales de 1.67 ± 0.02 .

Se encontró gran información para poder realizar la extracción de propóleo, medir actividad de agua y también sobre como nanoencapsular al propóleo por atomización.

Santana et al. (2017), estudiaron diferentes propóleos del noreste de Brasil, el trabajo se realizó en la universidad federal de Sergipe y universidad federal de Ceará, tuvieron como objetivo determinar los compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los propóleos de color pardo, verde y rojo, por lo tanto, usaron 2 g y 15 mL para empezar el proceso de purificación del propóleo, donde realizaron mediante un baño ultrasónico a 35° C por 60 minutos. Los extractos lo centrifugaron por 10 minutos, finalmente fueron filtrados por medio de filtros de celulosa. Presentaron resultados de $91,32 \pm 0.49$ mg GAE/g en compuestos fenólicos, $59,45 \pm 0.82$ mg de quercetina/g en contenido de flavonoides, también mencionaron que la actividad antioxidante del propóleo tiene relación con el contenido de compuestos fenólicos.

Este trabajo ayudó a tener en cuenta la variación del contenido de compuestos de los propóleos de acuerdo a su procedencia.

Cottica et al. (2015), estudiaron propóleos canadienses, tuvieron como objetivo de investigación extraer propóleo secuencial en dos pasos para que realicen comparaciones químicas y sus propiedades de estas. Realizaron las extracciones del propóleo en agua y en etanol, por lo que usaron 40 g de propóleo y 400 mL de etanol, estos lo agitaron por 24 horas a 37°C, luego los filtraron en papel Whatman N° 42 para eliminar restos. El agua y alcohol los evaporaron a presión reducida. Prosiguieron con la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante (DPPH), donde vieron la existencia de fuerte capacidad antioxidante en los propóleos. Llegaron a las conclusiones que los propóleos canadienses tenían iones parecidos al propóleo marrón brasileño. También que los polifenoles y los flavonoides se extrajeron preferentemente con etanol.

Esta información sirvió para poder contrastar los procedimientos, que se realizan en la extracción de propóleo, como realizaron los métodos de capacidad antioxidante y las recomendaciones que nos dan para poder realizar mejor el trabajo de investigación.

Da Silva et al. (2013), evaluaron propóleos atomizados procedentes de Brasil, el objetivo en esta investigación fue de obtener polvos de propóleo, donde usaron paredes encapsulantes como goma arábica y almidón OSA, seguidamente evaluaron sus propiedades físicas y funcionales. Realizaron una extracción etanólica de propóleo hasta ver que la muestra quede preparada, seguidamente prepararon las formulaciones de propóleo en almidón de goma arábica y almidón OSA a concentración de 30 g /100 mL, fueron homogeneizadas con un ultra-turrax T25, por un periodo de 2 minutos a 15000 rpm. Finalmente trabajaron en un secador por aspersion de modelo MSD 1.0 Lambaq, para ello usaron 120 °C temperatura de entrada y 91 °C temperatura de salida, caudal de aire a 0.60 m³/min y el diámetro de la boquilla fue de 1.3 mm, los polvos obtenidos se pusieron en viales bien tapados y forrados con papel aluminio. Estudiaron los compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante, microscopía electrónica de barrido, donde presentaron resultados de microfotografías SEM, las micropartículas mostraron tener forma redonda, algunos presentaron abolladuras atribuidas por la evaporación rápida del líquido, en cuanto a los resultados que obtuvieron para capacidad antioxidante, mencionan que las muestras con goma arábica presentaron mayor actividad antioxidante porque usaron una formulación adecuada de medio encapsulante y propóleo, humedad de 9.3 a 12 %, luminosidad de 88 a 89, Aw de 0.25 a 0.39, tamaño de partícula de 16 a 34 micras. La conclusión a la que llegaron fue que el propóleo es posible utilizarlo como un ingrediente funcional, que presente características adecuadas.

Esta investigación ayudó a entender cómo se realiza la encapsulación por atomización, además de ello ayudó a aclarar algunos análisis que realicé en mi trabajo de investigación.

Rajibul et al. (2010), estudiaron la capacidad antioxidante y los componentes químicos del propóleo indio, la investigación lo realizaron en la universidad de Visva-Bharat de India, tuvieron como objetivo de investigación reportar la actividad antioxidante del propóleo, para ello realizaron los extractos acuosos y etanólicos de

propóleo, la muestra la recolectaron en el mes de diciembre y luego la procesaron para el uso en su investigación, prosiguieron con la preparación EEP y AEP.

Determinaron contenido de flavonoides, contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante donde los resultados fueron los siguientes: para el contenido de polifenoles totales lo encontraron desde 269.10 y 159.10 mg GAE/g, el contenido de flavonoides fue de 25.50 y 57.25 mg QE/g, los ensayos que obtuvieron de antioxidantes AEP mostraron mayor actividad antioxidante comprados con EEP, esto puede ser atribuido a que poseen mayor contenido de polifenoles, de esta manera AEP puede ser un buen sustituto del extracto en etanol.

Esta investigación ayudó a tener en cuenta que los extractos de propóleo variando condiciones de extracción influye en los resultados.

Alencar et al. (2007), estudiaron un nuevo propóleo de coloración roja procedente de Brasil, el objetivo que tuvieron fue evaluar las actividades biológicas y composición química de estos, para lo cual recolectaron propóleo de regiones del noreste de Brasil, después pesaron 100 g de propóleo, diluidas en 450 ml de etanol al 80% en baño maría por media hora, seguidamente lo filtraron. Los análisis que realizaron a este nuevo propóleo fue la actividad antioxidante (DPPH), compuestos fenólicos y flavonoides, donde mostraron resultados de 232 mg GAE/g de polifenoles totales, el reporte de flavonoides fue de 43 mg/g equivalente de quercetina, para actividad antioxidante reportaron los porcentajes, donde tuvieron 57% de actividad antioxidante. Por lo que demostraron que poseen fuerte actividad antioxidante, también mencionaron que el contenido de flavonoides tenía una alta relación sobre la reducción de antioxidantes.

Esta investigación ayudó a tener más información sobre extracción de propóleo y la influencia de los compuestos flavonoides sobre la actividad antioxidante.

Bedascarrasbure et al. (2004), estudiaron al propóleo argentino, el objetivo que tuvieron fue determinar la cantidad de fenoles y flavonoides en propóleos, donde realizaron el análisis de 84 muestras de propóleo que provenían de las diferentes regiones de argentina. Para ello emplearon un diferente método que consistió en la

extracción de cera por método de Soxhlet, después de esto realizaron la extracción de resinas con etanol al 96%. Estudiaron los compuestos fenólicos totales y flavonoides totales. El resultado de contenido de fenoles totales que obtuvieron está en el rango de 13.7 y 21.23 % (p/p) y flavonoides entre 3.61 y 12.28 % (p/p). Donde llegaron a las siguientes conclusiones: los propóleos argentinos tienen alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, también que existe variación de acuerdo a la procedencia de estos.

Este trabajo de investigación ayudó en mostrar otros procedimientos para realizar el análisis de fenoles y flavonoides de los propóleos.

2.2. Antecedentes nacionales

López y Ubillús (2004), estudiaron al propóleo en la provincia de Oxapampa, en el departamento de Pasco-Perú, tuvieron como objetivo de investigación determinar metabolitos secundarios, los compuestos fenólicos y flavonoides, la materia que usaron fue extraída en medio etanólico, estas muestras las recolectaron en los departamentos de Piura, Ayacucho, Pucallpa. La manera como extrajeron el propóleo fue poner en inmersión en alcohol por un período de dos semanas, seguidamente filtraron el material y dejaron libre de material ajeno al propóleo, seguidamente coloraron en estufa a 50 °C por 48 horas hasta tener peso constante. Para el desarrollo de la investigación utilizaron el método Folin-Ciocalteu, método con el que identificaron flavonoides y compuestos fenólicos, entre los resultados más resaltantes para mi trabajo de investigación, fueron los diferentes metabolitos secundarios como catequina, lactona, triterpenos, etc. En cuanto a sus resultados de fenoles sus valores fueron de 60.5 ± 0.10 hasta 78.6 ± 0.20 mg de GAE/g de EEP y flavonoides 28.5 ± 0.10 hasta 42.5 ± 0.10 mg de QE/g de EEP, finalmente llegaron a la conclusión que el propóleo de Ayacucho presentó más cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides.

Información que sirvió para identificar evaluar los métodos de cuantificación de flavonoides y compuestos fenólicos.

CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

3.1. Bases teóricas

3.1.1. Propóleo

La palabra propóleo se origina del griego “pro” que es defensa, y “polis” que es ciudad; teniendo el termino propolis que es defensa de la colmena (Cueto, 2001).

El propóleo es la mezcla de sustancias resinosas que las abejas las acopian de las yemas de árboles y vegetales, estas se mezclan con saliva de las mismas abejas (Farré et al., 2004). Esta materia es usada como desinfectante y microbicida dentro de la colmena (Lacalle, 2008).

El propóleo es una sustancia empalagosa de coloración variante de acuerdo a su procedencia, tiene sabor amargo y su aroma puede ser agradable. Este se obtiene de la recolección de los exudados o secreción de los vegetales que son trabajadas por las abejas (López, 2015). Su apariencia superficial es sin forma, de color variante de marrón claro a oscuro y presenta fuerte olor a resina (Maldonado et al., 2013).

Composición química

El propóleo tiene una composición muy compleja que cambia por la floración, condiciones geográficas y climas donde se elaboran. Su composición depende mucho de la vegetación del alrededor y la prioridad de las abejas por el tipo de flor, por lo que las abejas colectan resinas 1 a 2 kilómetros a la redonda de su colmena (Bankova et al., 2005).

La presencia de ceras, resina, bálsamos, aceites esenciales y polen, muestran la presencia de compuestos bioactivos totales como ácido cinámico, compuestos fenólicos, flavonoides, terpenos, ácidos aromáticos, derivados del ácido caféico, ácidos grasos y aminoácidos (Ferreira et al., 2011).

Los propóleos presentan la siguiente composición química como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1*Composición química del propóleo*

Componente	Porcentaje (%)	Contenido
Resinas y bálsamos	50-55	Flavonoides, ácidos fenólicos y esterés
Cera de abeja	30-40	Ácidos grasos de cadena larga
Aceites esenciales	5-10	Aceites volátiles
Polen	5	Proteínas
Materiales diversos y compuestos orgánicos	5 – 14	14 trazas de minerales, Fe y Zn (más comunes), cetonas, lactonas, quinonas, esteroides, ácido benzoico, vitaminas y azúcares

Fuente: (Krell, 1996).

Propiedades y usos

El uso de propóleo tiene un gran efecto sobre la salud humana y se utiliza como medicamento tradicional hace mucho tiempo atrás. Hoy en día, se sabe que es antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio, antiviral, anestésico, antioxidante, antitumoral, antiprotozoario, anticancerígeno (Anjum et al., 2019).

Las propiedades farmacológicas según Huayhua y Nina (2009) son:

- Antimicrobiana, el propóleo ayuda contra microorganismos como *Bacilo de Koch*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, salmonela, etc.
- Antifúngica, presenta capacidad fungicida a especies como *Candida Albicans*, *Aspergillus Niger*, entre otros.
- Antiviral, presenta efectos inhibidores a los virus, influenza, gripes, entre otros.
- Antiprotozoario, presenta una regular actividad para controlar *Tripanosoma Cruzi*, *Acanthamoeba Castellanii*, entro otros protozoarios.

- Antiinflamatorio, los componentes del propóleo como ácido caféico, quercetina y naringina tiene poder antiinflamatorio influyendo en la producción de *eicosanoides*.
- Otras propiedades y usos, como el poder antioxidante se deben a los compuestos flavonoides, también son buenos para la curación de heridas debido a sus propiedades bactericidas y antiinflamatorias, tiene uso como desodorante, conservante y odontológico.

3.1.2. Propóleo purificado

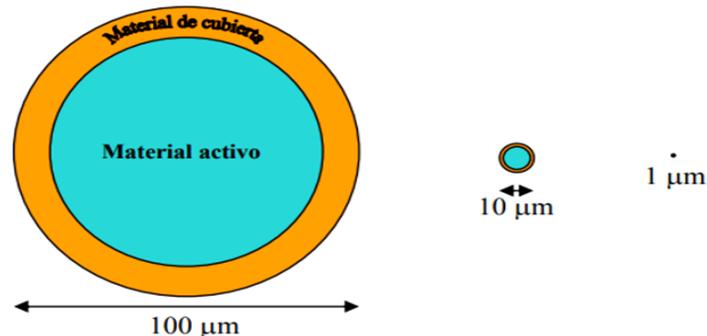
La purificación de propóleo consiste en la remoción ceras y resinas por medio solventes (mezcla de agua y etanol). También se ha evidenciado que la concentración de etanol como solvente influye sobre la variación de la capacidad antioxidante (Cotica et al., 2011).

3.1.3. Encapsulación

Consiste en la envoltura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos a través de una capsula, lo que permite el cuidado del medio ambiente para evitar reacciones químicas, así incrementar la vida útil y ayudar a cuidar la composición del producto (Desai y Jin, 2005).

Figura 1

Estructura de un material encapsulado



Fuente: (Lozano, 2009).

3.1.4. Nanoencapsulación y microencapsulación

La palabra encapsulación proviene originalmente del campo de la biotecnología y la ciencia farmacéutica, es usada para proteger la administración de ingredientes, medicamentos y vacunas sensibles, además, para hacer que los procesos productivos sean más eficientes. Al pasar del tiempo, la encapsulación en la industria alimentaria se ha usado para proteger el ingrediente activo de los alimentos, porque con esta técnica es posible proteger los materiales encapsulados del calor, la humedad u otras condiciones extremas, mejorando así su estabilidad y manteniendo la viabilidad (Lee et al., 2018). Además, existen diferentes técnicas disponibles para la encapsulación de ingredientes alimentarios; el tamaño de las cápsulas producidas depende de la técnica de encapsulación, microencapsulación (50-200 μm) y nanoencapsulación (1-100 nm) (Chopde et al., 2020).

Por lo tanto, los procesos de micro y nanoencapsulación, consisten en recubrir ingredientes bioactivos dentro de cápsulas, donde el tamaño de partícula es micrométrico y nanométrico. Esto se da con la finalidad de protegerlas de condiciones ambientales en deterioro como altas temperaturas, oxígeno, luz, variaciones de pH, interacciones no deseadas con otros compuestos, etc. (Yada et al., 2014).

La nanoencapsulación presenta muchas ventajas sobre microencapsulación. Principalmente, las capas ultrafinas, deberían mejorar significativamente el transporte masivo de nutrientes esenciales a los islotes y reducir el volumen total de material y células que se trasplantan. Además, con la nanoencapsulación, el tamaño pequeño de las cápsulas, permite el trasplante a una gran cantidad de sitios alternativos dentro del cuerpo. Por ello, la nanoencapsulación podría usarse para proteger muchos tipos de células además de los islotes primarios (De Vries et al., 2020).

Nano proviene del griego nanos, cuyo significado es considerablemente diminuto, es aplicado en diversos campos disciplinarios (Pinzon, 2010).

la nanoencapsulación forma nanoesferas con estructuras homogéneas donde se muestra el núcleo-cápsula. Para obtener las nanopartículas es importante realizar una buena formulación ya que influye en la distribución de tamaño homogéneo, la morfología y la compatibilidad de las propiedades fisicoquímicas del agente bioactivo (Li et al., 2010).

3.1.5. Secado por Aspersión

El secado por aspersión es una operación unitaria, que ayuda a transformar una materia de estado líquido a un polvo fino, mediante una corriente de aire caliente, para seguidamente ser separada del flujo de corriente a través de un ciclón (Walters et al., 2014).

Este método es muy practicado por la industria alimentaria, para producir alimentos como leche en polvo, café instantáneo, etc. También es usado para encapsular sabores, ingredientes para alimentos, compuestos bioactivos y aceites esenciales (Gómez-Cruz y Jiménez-Munguía, 2014).

3.1.6. Materiales encapsulantes

Existen diferentes paredes encapsulantes para cubrir materiales sólidos, líquidos o gaseosos, estos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Materiales encapsulantes

Material para encapsular	Cobertura específica
Gomas	Acacia, agar, alginato de sodio, carragenina
Carbohidratos	Almidón, maltodextrinas, quitosano dextranos, sacarosa, jarabes de maíz
Celulosas	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, caboximetil-celulosa
Lípidos	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteárico, trisetearina
Proteínas	Gluten, caseína, albúmina
Materiales inorgánicos	Sulfato de calcio, silicatos

Fuente: (Desai y Jin, 2005).

3.1.7. Matriz de Maltodextrina

Se obtiene a partir de métodos de hidrólisis acida o enzimática de los almidones, donde su estructura está constituida por D-glucosa unidas por enlaces α -1,4. La maltodextrina es muy buena alternativa como encapsulante debido a que tiene bajo costo, es eficiente, tiene alta solubilidad en agua, baja viscosidad, es inodora e incolora (García-Gutiérrez et al., 2004; Fioramonti, 2015).

3.1.8. Matriz de Goma Arábica

Es un polímero con elevadas ramificaciones de galactosa, ramnosa, arabinosa y ácido glucurónico. La presencia de la proteína unida covalentemente en las moléculas de goma arábica, influye altamente en las propiedades funcionales de esta (Randall, 1988). Además de esto la goma arábica tiene una buena solubilidad en agua, baja viscosidad a altas concentraciones de sólidos, también forma una matriz alrededor de compuestos en los procesos de deshidratación, donde esta pared encapsulante ayuda a mantener protegido el material (Tevenet, 1988).

Sin embargo, esta tiene alto costo y su disponibilidad está sujeta a las fluctuaciones, por ello es importante tener presente otros agentes encapsulantes que ayuden en este proceso (Gibbs et al., 1999; McNamee et al., 2001).

3.1.9. Compuestos fenólicos

Los fenoles son metabolitos secundarios que se encuentran en todo el reino Plantae, su concentración depende mucho del ciclo vegetativo (Paladino, 2008).

La palabra compuestos fenólicos unifica a las sustancias que presentan varias funciones fenol (Creus, 2004).

Los compuestos fenólicos están formados por más de 8000 compuestos de origen vegetal, por lo que tienen características estructurales similares, un grupo fenol presenta por lo menos un grupo hidroxilo como sustituyente (Robbins, 2003).

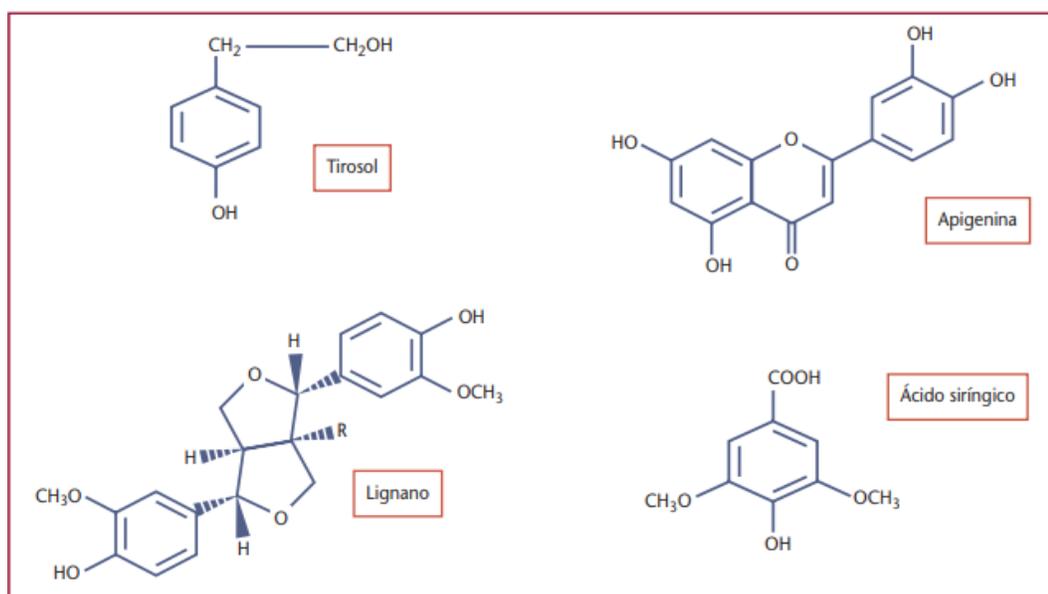
Los compuestos fenólicos presentan la forma de ésteres o glicosidos, mas no como compuestos libres, es así que se debe tener en cuenta al momento de realizar la extracción de estos compuestos (Grotewold, 2006).

Estructura química de los compuestos fenólicos

Químicamente los compuestos fenólicos tienen un anillo aromático, un anillo de benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Tsimidou, 1998).

Figura 2

Estructura de los compuestos fenólicos



Fuente: (Creus, 2004).

Importancia de los compuestos fenólicos

Una de las mas importantes propiedades de los compuestos fenólicos es la capacidad antioxidante, esta es responsable de inhibir la oxidación de biomoleculas ayudando como efecto preventivo sobre determinadas enfermedades (Soobratte et al., 2005). Los flavonoides estan dentro del grupo de compuestos fenólicos que presenta un elevado potencial para la salud, tales como quercetina, kaemferol, miricetina; los cuales forman la fracción polifenólica de vegetales (Manach et al., 2004).

Tabla 3*Clasificación de compuestos fenólicos*

Numero de átomos de carbono	Estructura básica	Clase	Ejemplo
6	C6	Fenoles simples benzoquinonas	Catecol, hidroxiquinona 2,6dimetilhidroxiquinona
7	C6-C1		Ácido gálico y salicílico
8	C6-C2	Acetofenonas Derivados de la tirosina Ácidos fenilacéticos	3-Acetyl-6-methoxybenzaldehído Tirosol p-Hidroxifeilacético
9	C6-C3	Ácidos hidroxicinámicos Fenil propenos Cumarinas Isocumarinas Cromones	Ácido cafeico, Ácido ferúlico, Eugenol Umbeliferona, aesculetin, Eugenin
10	C6-C4	Naftoquinonas	Juglone,plumbagin
13	C6-C1-C6	Xantonas	Magniferin
14	C6-C2-C6	Estilbenos Antroquinonas	Resveratol, Emodin
15	C6-C3-C6	Flavonoides Isoflavoniodes	Quercetin, Ginistein
18	(C6-C3) ₂	Lignanós Neolignanós	Pinoresinol
30	(C6-C3-C6) _n	Biflavoniodes	Amentoflavona
N	(C6-C3) _n (C6-C3-C6) _n	Ligninas Taninos	

Fuente: (Harbone, 1989).

3.1.10. Capacidad antioxidante

Los alimentos poseen la capacidad antioxidante cuando controlan la oxidación de un organismo inseguro, los radicales libres son los causantes del envejecimiento y diferentes enfermedades (Starke-Reed, 2003).

El proceso de óxido-reducción tiene dos momentos importantes: en primer lugar, la oxidación que genera pérdida de electrones de hidrógeno para ganar oxígeno en la molécula y en segundo lugar la reducción que permite ganar electrones de hidrógeno, para perder oxígeno. De esta manera el oxidante se reduce reaccionando con la molécula que oxida. Este proceso es cotidiano en el organismo humano y representa el conocido par óxido-reductor o balance redox (Quintanar y Calderón, 2009).

Se debe aclarar que el termino oxidación solo se les da a sustancias, pero se debe tener en cuenta que también tiene relación con los procesos celulares, que conllevan a tener enfermedades. Así, no sólo hay que valorar los mecanismos de defensa del organismo, sino también las especies involucradas (Coronado, 2015).

3.1.11. Flavonoides

Los flavonoides son considerados pigmentos que se encuentran en los vegetales y que cuidan al organismo de la oxidación por rayos ultravioletas, contaminación ambiental, sustancias químicas en los alimentos, etc. (Aherne, 2002).

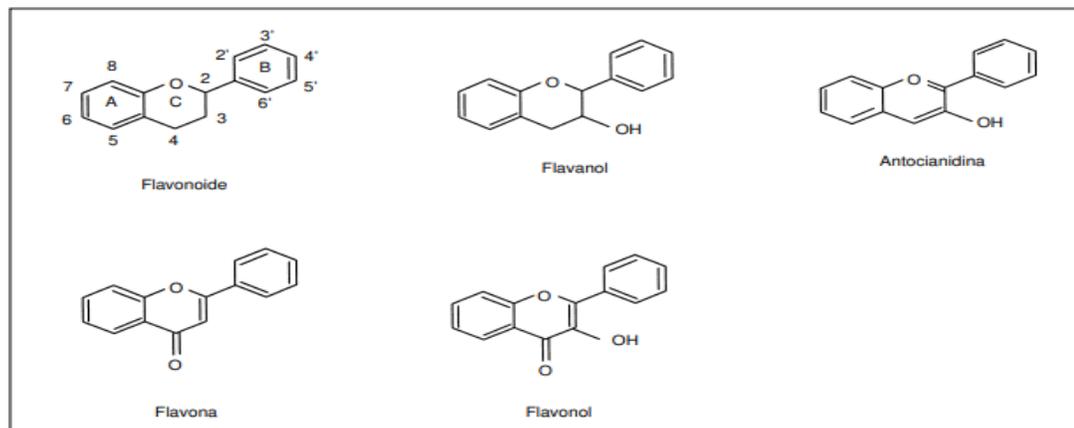
Los flavonoides abarcan un grupo de compuestos polifenólicos que están presentes en diferentes frutas y vegetales, existen 13 subclases de flavonoides con más de 5000 compuestos, presentan diversas propiedades, pero el que ha sido más estudiado es la capacidad antioxidante (Pérez, 2003).

Estructura química de los flavonoides

Los flavonoides presentan bajo peso molecular, tienen una estructura común de difenil piranos (C6-C3-C6), también está compuesto por dos anillos de fenilos A y B, unido a un anillo C de piranos (heterocíclicos) (Kuhnau, 1976).

Figura 3

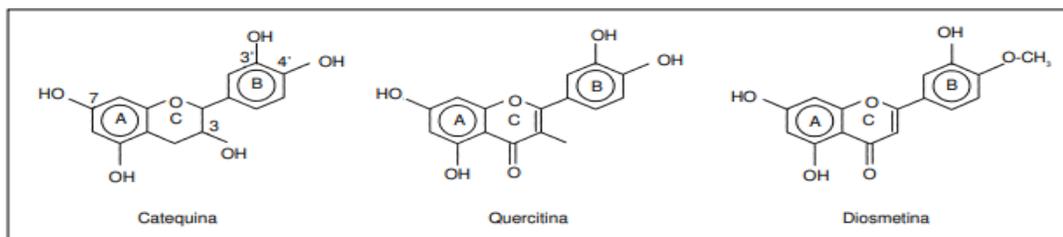
Estructura básica y tipos de flavonoides



Fuente: (Martínez-Flórez, 2002).

Figura 4

Estructura de diferentes tipos de flavonoides



Fuente: (Martínez-Flórez, 2002).

Flavonoides destacados

Según Ross y Kasum (2002), se muestra algunos flavonoides de gran importancia:

- Citroflavonoides: quercetina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno.
- Isoflavonoides: genisteína y daidzeína.
- Proantocinidinas: uva, vino tinto.
- Antocianidinas: pigmentos de color rojo y rojo azulado.
- Ácido elágico: frutas como uva y verduras.
- Catequina: té verde y negro.
- Kaemferol: puerros, brócoles, rábano, etc.

3.1.12. Espectrofotometría por transformada de Fourier (FTIR)

Es una técnica espectroscópica vibracional, centrada en la interacción entre la radiación electromagnética y el material en las regiones IR. Permite analizar muestras cuantitativa y cualitativamente, tanto para muestras orgánicas e inorgánicas, en cualquier estado de la materia con un análisis de picos de absorción a una longitud de onda determinada (Rees, 2010).

Es considera una huella o registro único de cada molécula, se pasa una fuente de radiación por la muestra y se determina que fracción de la radiación incidente se absorbe a una energía en particular. La absorción de la radiación de un compuesto a una longitud de onda dada, origina un descenso en el porcentaje de transmitancia (%T), y se manifiesta como un pico o banda de absorción en

el espectro correspondiente a la frecuencia vibratoria de grupos funcionales en la molécula (Rees, 2010).

3.1.13. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Es una técnica de análisis de superficies, utiliza un haz de electrones de gran energía que interactúa con una muestra opaca a los electrones. Esto permite tener resultados de la topología, composición química y estructura cristalina de muestras, es por esto que se usa para estudiar micro y nanoestructuras (Ipohorski, 2011). Los electrones interactúan con los átomos que componen la muestra produciendo señales que contienen información sobre la topografía de la superficie de la muestra, la composición y otras propiedades como la conductividad eléctrica. Estas señales pueden ser captadas por detectores, por lo tanto, dependiendo del detector tendremos cierta información de la muestra (Dimas, 2011).

3.1.14. Rendimiento en encapsulados

El rendimiento en la encapsulación se da a conocer mediante la cantidad de material obtenido y la cantidad total de material empleado (material activo + encapsulante). Esto ayuda mucho a poder tener un control de gastos, sabiendo que este proceso demanda de economía y tiempo, por lo que es importante contar con la mayor cantidad posible de material para recuperar los gastos (Lozano, 2009).

3.1.15. Colorimetría

Es un método físico muy usado para determinar el color de una muestra. Para la medición de una muestra se utiliza el colorímetro donde se describe de una manera cuantitativa la coloración, existen diferentes modelos propuestos por (Carreño et al., 1995; Lana et al., 2006; Mendoza et al., 2006) que permiten facilitar la especificación de objetos en colores de una forma estándar.

Los diferentes modelos plantean un sistema de coordenadas tridimensional en el cual se define un sub espacio, donde cada color queda definido por un punto único. De este modo CIE L*a*b* da una mejor precisión de color con referencia

a la percepción humana, L^* va desde negro = 0 a blanco = 100, a^* desde verde (-) a rojo (+) y b^* desde azul (-) a amarillo (+) (Pathere et al., 2013; Abbott, 1999; Ferreira, 1994; McGuire, 1992).

3.1.16. Actividad de agua (a_w)

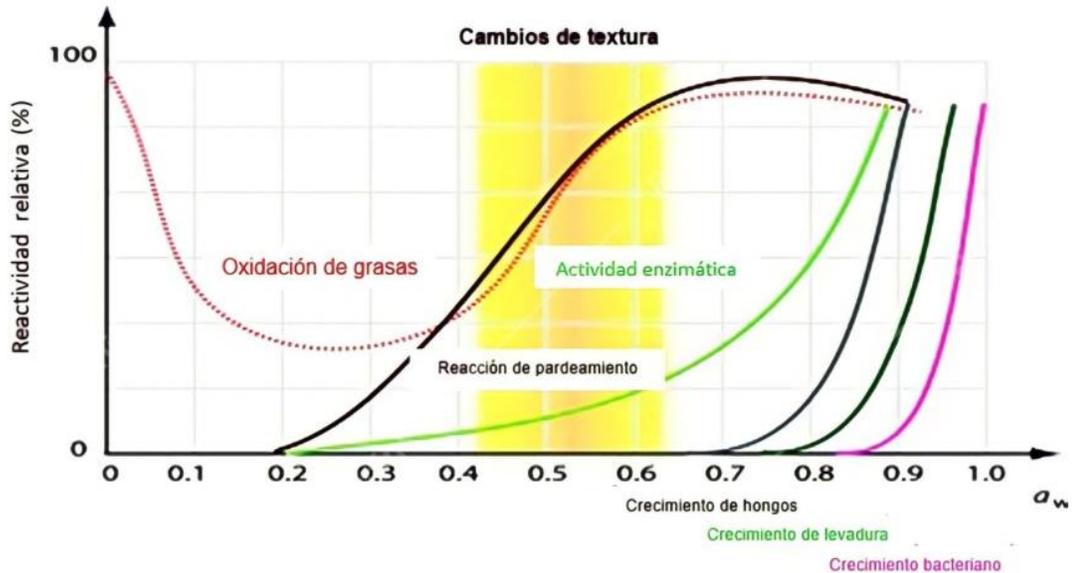
La actividad del agua (a_w) se define formalmente como la presión parcial de vapor de agua en equilibrio con el alimento dividido por la presión parcial de vapor de agua en condiciones estándar, (presión de vapor parcial del agua pura a la misma temperatura) (Cardona, 2019).

Este parámetro tiene relación con el contenido de agua de un alimento, directamente con el agua disponible o no ligada al soluto. Tiene relación con la vida útil de los alimentos, porque este determina la disponibilidad de agua para el crecimiento de microorganismos, actividad química, enzimática durante la conservación del alimento, que va dañar su calidad. Esto se da porque los microorganismos requieren cantidad de agua libre para vivir, donde la reacción se dan en los valores de 0 a 1, cuando se toman valores cercanos a 0 más difícil es la actividad biológica, por eso, existe mayor conservación y vida útil. Es por ello que muchos métodos de conservación de alimentos se basan en reducir la actividad de agua mediante la deshidratación, liofilización, adición de azúcares o sales, evaporación y congelación.

La a_w tiene un gran impacto tanto en la seguridad del alimento como en su calidad, ya que la actividad biológica va a influir también en su textura, sabor, color, gusto, valor nutricional y tiempo de conservación (Cardona, 2019).

Figura 5

Actividad de agua en alimentos



Fuente: (Vilgis, 2015).

3.1.17. Humedad

La cantidad de humedad es uno de los parámetros que ayudan en regular la calidad de granos y sus derivados, sin embargo, también influye en su conservación o resistencia al deterioro, a su vez es la referencia de la base seca del análisis bromatológico y en las operaciones comerciales de compra y venta. Por eso, los métodos para su cuantificación son muy diversos, pudiendo ser dispositivos no destructivos para la detección continua en tiempo real en la línea de producción o con técnicas de laboratorio (Bradley, 2010).

3.1.18. Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión dinámica de luz es una técnica utilizada para medir el tamaño de una partícula de materiales, por este medio se logra identificar cuanta distribución de tamaño de partícula existe (Cuadros-Moreno et al., 2014).

Cuando la luz láser alcanza muchas partículas de una suspensión, se dispersa en diferentes direcciones, al tener este comportamiento los haces de luz interfieren entre sí, motivo por el cual se tiene una intensidad de dispersión determinada, cambio constante de posiciones de las partículas, cambio de

condiciones de interferencia e intensidad de dispersión (Cuadros-Moreno et al., 2014).

3.2. Marco conceptual

- **Propóleo:** sub producto creado por las abejas a partir de resinas y exudados de las plantas (Bodini et al., 2013).
- **Encapsulación:** envoltura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos a través de una capsula (Desai y Jin, 2005).
- **Nanoencapsulación:** en industria alimentaria protege el ingrediente activo de los alimentos de las condiciones adversas (Lee et al., 2018).
- **Secado por aspersion:** operación que ayuda a transformar una materia de estado líquido a un polvo fino, mediante una corriente de aire caliente (Walters et al., 2014).
- **Matriz de Maltodextrina:** material encapsulante obtenido por hidrolisis, con bajo costo, con baja viscosidad, soluble en agua, inodora e incolora (García-Gutiérrez et al., 2004; Fioramonti, 2015).
- **Matriz de Goma arábica:** material encapsulante de baja viscosidad, buen protector de material (Tevenet, 1988).
- **Compuestos fenólicos:** metabolitos secundarios que se encuentran en todo el reino Plantae, su concentración depende mucho del ciclo vegetativo (Paladino, 2008).
- **Capacidad antioxidante:** es la medida de la actividad antioxidante (Mercado-Mercado et al., 2013).
- **Flavonoides:** son considerados pigmentos que se encuentran en los vegetales y que cuidan al organismo de la oxidación (Aherne, 2002).
- **Espectrofotometría por transformada de Fourier:** es considera una huella o registro único de cada molécula (Rees, 2010).
- **Microscopía electrónica de barrido:** muestra la topología, composición química y estructura cristalina de muestras (Ipohorski, 2011).
- **Rendimiento en encapsulados:** es la relación de la cantidad de material obtenido y la cantidad total de material empleado (Lozano, 2009).

- **Colorimetría:** es un método físico usado para determinar el color de una muestra (Carreño et al., 1995; Lana et al., 2006; Mendoza et al., 2006).
- **Actividad de agua:** agua libre disponible de un producto, para el crecimiento de microorganismos, actividad química, enzimática durante la conservación del alimento (Cardona, 2019).
- **Humedad:** influye en su conservación o resistencia al deterioro de alimentos (Bradley, 2010).
- **Dispersión dinámica de luz:** la dispersión dinámica de luz es una técnica utilizada para medir el tamaño de una partícula de materiales (Cuadros-Moreno et al., 2014).

CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de Nanotecnología de Alimentos (LINA) y en el Laboratorio de Investigación de Control y Análisis de Aguas (LICAA) de la Universidad José María Arguedas (UNAJMA), que se encuentra en la localidad de Santa Rosa, del distrito de Talavera, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac. El Análisis SEM y DLS se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el Centro de Investigaciones Tecnológicas Biomédicas y Medioambientales.

4.2. Identificación de las variables

4.2.1. Variables independientes y dependientes

Mediante la Tabla 4 se visualiza las variables independientes y dependientes:

Tabla 4

Variables independientes y dependientes

Variable independiente	Variables dependientes
Nanoencapsulados (Huinchos, Chaccamarca, Cuncataca).	Flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Rendimiento, humedad, actividad de agua y color. Grupos funcionales, microfotografías y tamaño de partícula.

4.3. Materiales, instrumentos y equipos

Los materiales, instrumentos y equipos que se utilizaron para llevar a cabo esta investigación se detallan de la siguiente manera:

4.3.1. Materiales

Los materiales que se utilizaron en la presente investigación se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5*Materiales*

N°	Material	Cantidad
1	Vaso de precipitado de 100 mL	10 unidades
2	Vaso de precipitado de 250 mL	10 unidades
3	Vaso de precipitado de 500 mL	10 unidades
4	Vaso de precipitado de 1000 mL	10 unidades
5	Micro pipetas automatizadas de 10 a 100 μ L	1 unidad
6	Micro pipetas automatizadas de 100 a 1000 μ L	1 unidad
7	Micro pipetas automatizadas de 1000 a 5000 μ L	1 unidad
8	Probetas de 10 mL	10 unidades
9	Probetas de 50 mL	10 unidades
10	Probetas de 100 mL	10 unidades
11	Probetas de 500 mL	10 unidades
12	Lunas de reloj	5 unidades
13	Placa Petri	10 unidades
14	Viales de plástico y ámbar	10 unidades
15	Espátulas de caucho	3 unidades
16	Micro espátulas de acero inoxidable	10 unidades
17	Pisetas	3 unidades
18	Frascos de polietileno para la conservación de muestras	10 unidades
19	Embudos de vidrio	10 unidades
20	Goteros	12 unidades
21	Papel Filtro de grado 41	1 paquete
22	Bolsa transparente de polipropileno	15 unidades
23	Papel aluminio	1 caja
24	Papel tissue	1 caja
25	Guantes de nitrilo	1 caja
26	Cubos de hielo en bolsa de 3 g.	3 unidades
27	Bastidores	3 unidades
28	Tubos de ensayo	30 unidades
29	Cinta scotch	1 unidad
30	Tijera	2 unidades
31	Film	1 rollo
32	Fiolas de 25 ml	3 unidades
33	Fiolas de 50 ml	3 unidades
34	Fiolas de 100 ml	3 unidades
35	Fiolas de 250 ml	3 unidades

4.3.2. Instrumentos y equipos

Los instrumentos y equipos que se utilizaron en la presente investigación se detallan en la Tabla 6.

Tabla 6

Instrumentos y equipos

N°	Material	Cantidad	Marca
1	Balanza analítica	1 unidad	PIONER (OHAUS)
2	Refrigeradora	1 unidad	LG
3	Agitadores magnéticos termostatizado	6 unidades	CAT (M6)
4	Refractómetro de mesa	1 unidad	ISOLAB
5	Colorímetro	1 unidad	Konica Minolta
6	Estufa de secado	1 unidad	Binder
7	FTIR	1 unidad	Thermo Fisher
8	Microscopio electrónico de barrido (SEM)	1 unidad	Prisma E (Thermo Fisher, Massachusetts, USA)
9	Espectrofotómetro UV	1 unidad	Thermo scientific
10	Nano Spray Dryer	1 unidad	B-90 BUCHI
11	Centrifuga refrigerada	1 unidad	BIORIDGE
12	Viscosímetro	1 unidad	BROOKFIELD METEK
13	Vortex	1 unidad	ISOLAB
14	Medidor de actividad de agua	1 unidad	Rotronic
15	Destilador	1 unidad	GFL
16	Purificador	1 unidad	PURELAB
17	Sistema de extracción automática	1 unidad	EDGE
18	Desecador	1 unidad	SPECAC
19	Dispersador dinámico de luz	1 unidad	Nicomp

4.3.3. Reactivos

Los reactivos que se utilizaron en la presente investigación se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7

Reactivos

N°	Material	Cantidad
1	Reactivo Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2- carboxílico)	1 frasco
2	Radical libre ABTS 2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid	1 frasco
3	Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	1 frasco
4	Persulfuro Potásico	1 frasco
5	Ácido gálico	1 frasco
6	Reactivo de Folin-Ciocalteu	1 frasco
7	Quercetina	1 frasco
8	Carbonato de Sodio	1 frasco
9	Cloruro de aluminio	1 frasco
10	Hidróxido de sodio	1 frasco
11	Metanol	2 litros
12	Etanol de 96°	2 litros
13	Agua destilada	5 litros
14	Agua ultra pura	5 litros

4.4. Población y muestra

4.4.1. Población

No existe población debido a que se usó una porción del total de propóleos que hay en una colmena, a la vez que se realizó un muestreo no probabilístico (discrecional o de juicio) donde se recolectaron los propóleos en base a la experiencia, mejores condiciones y con el fin de ver la variabilidad de acuerdo su procedencia.

4.4.2. Muestra

Se tomó aproximadamente 30 g de propóleo por referencia de Busch et al. (2017), que fueron provenientes del centro poblado Huinchos - distrito de José María Arguedas (latitud sur: 13° 42' 52.5" S, longitud oeste: 73° 20' 54.5" W), centro poblado de Chaccamarca - distrito de Talavera (latitud sur: 13° 38' 49.1" S, longitud oeste: 73° 24' 51.8" W) y centro poblado de Cuncataca

provincia de Andahuaylas (latitud sur: 13° 39' 54.9" S, longitud oeste: 73° 24' 33.1" W).

- **Mapa referente de recolección para los propóleos**

Mediante la Figura 6 se da referencia a los lugares donde fueron recolectados los propóleos.

Figura 6

Lugares de recolección de los propóleos



4.4.3. Unidad de análisis

Fueron los nanoencapsulados de propóleo, donde se tomaron pequeñas porciones para cada análisis de las propiedades en estudio.

4.5. Tipo de investigación

El trabajo de investigación fue aplicada, experimental y prospectiva. Aplicada porque se pretende evidenciar que el propóleo nanoencapsulado posee material bioactivo y mejores características para su próxima aplicación en alimentos, experimental debido a que se manipularán los propóleos de acuerdo a su procedencia, prospectivo ya que se tiene en cuenta que este polvo bioactivo a futuro sea utilizado por las industrias como material de estudio.

4.6. Metodología experimental

Se realizó la nanoencapsulación de propóleo (Figura 7 y 8), siguiendo las metodologías descritas para purificación de propóleo y nanoencapsulamiento de propóleo purificado.

Descripción del diagrama de flujo para la purificación de propóleo

El diagrama de flujo para la purificación de propóleo se realizó según la metodología de Busch et al. (2017) con ligeras modificaciones:

Cosecha o recolección: se retiró la rejilla de propóleo que se encuentra encima de las cajas de las colmenas, se realizó con la indumentaria adecuada y con mucho cuidado, el tiempo de producción del propóleo es de 1 a 3 meses.

Almacenamiento: el propóleo se almacenó en el congelador de la refrigeradora a -5°C de temperatura.

Raspado: se realizó de forma manual, en este caso se debe tener en cuenta que el propóleo debe estar a bajas temperaturas ya que fue más fácil extraer de las mallas, para esto se usó cubos de hielo en bolsa. Seguidamente se colocó en vasos de

precipitado. No se pudo raspar el propóleo a temperatura ambiente ya que es bastante compacto en la malla.

Pesado: se pesó 15 g. de propóleo en una balanza analítica para posteriormente ser inmersas en etanol.

Inmersión: la muestra de propóleo de 15 g fue inmersa en 100 mL de etanol al 80% para seguidamente ser agitados.

Agitado: se realizó mediante un agitador magnético a 1600 rpm durante 24 horas. También se cubrió el vaso de precipitado con film para evitar la evaporación del alcohol.

Pre-filtrado: una vez agitado el propóleo en medio etanólico, se vió que este se encuentra disuelta en alcohol, se filtró mediante un papel filtro Whatman de grado 41, donde el material restante fueron las resinas y ceras del propóleo.

Centrifugación: se realizó la centrifugación a 3600 rpm x 10 min a -5 °C con la finalidad de separar las ceras y resinas del propóleo para así obtener un extracto puro.

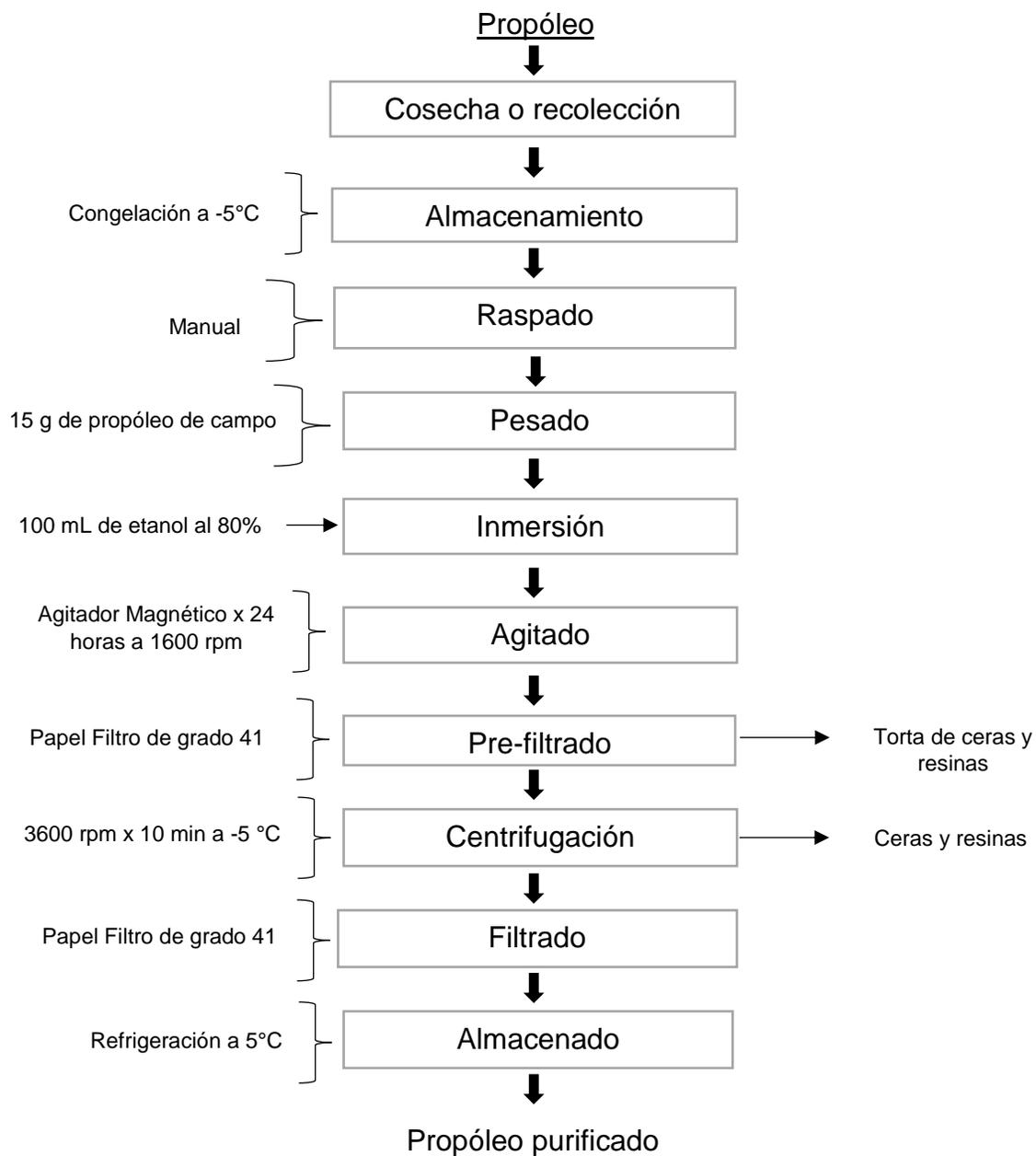
Filtrado: se realizó con la finalidad de asegurar que la muestra sea pura.

Almacenamiento: se realizó el almacenamiento del propóleo purificado en una refrigeradora a 5 ° C, con la finalidad de conservar el propóleo purificado para sus posteriores usos.

Los tres propóleos crudos de Huinchos, Chaccamarca y Cuncataca se obtuvieron usando las mismas condiciones de extracción.

Figura 7

Diagrama de flujo para la purificación de propóleo



Descripción del diagrama de flujo para nanoencapsulamiento de propóleo purificado

Se realizó el nanoencapsulamiento de propóleo purificado según la metodología de Busch et al. (2017) con ligeras modificaciones:

Pesado: se pesó 15 g de maltodextrina y 0.15 g de goma arábica en una balanza analítica.

Mezclado: se mezcló la maltodextrina y goma arábica para seguidamente ser agitadas.

Agitado: se midió en un vaso de precipitado 50 mL de agua ultra pura, seguidamente se puso al agitador Termomagnético a 1600 rpm, los encapsulantes mezclados se añadieron de a poco al agua para que se solubilice, esto se realizó hasta que se termine de añadir los encapsulantes y fue agitado por 24 horas.

Agitado-propóleo: una vez pasado las 24 horas, se añadió 5 mL de extracto de propóleo a la mezcla de agua con los encapsulantes, se agitó por 5 minutos con la finalidad de homogenizar estas. También se trabajó a 1600 rpm.

Agitado vortex: seguidamente se retiró este medio líquido a viales de 450 mL, para agitar a 3000 rpm en el vortex durante un periodo de 5 minutos.

Viscosidad: se midió la viscosidad del líquido que fue menor a 9 cP, esto se dio con la finalidad de que el líquido pueda pasar por el nano spray dryer.

Atomizado: se realizó en el nano spray dryer a 120 °C y a presión de 25 mbar para obtener el nanoencapsulado de propóleo.

Almacenamiento: se colocó en viales con sus respectivas rotulaciones y se mantuvo en ambiente fresco.

Los tres extractos de propóleos de Huinchos, Chaccamarca y Cuncatata tuvieron las mismas condiciones de nanoencapsulación.

4.7. Métodos de análisis

Los métodos que se usaron para la presente investigación, fueron útiles para concretar los propósitos de este estudio.

Para el análisis de capacidad antioxidante por DPPH y ABTS, compuestos fenólicos y flavonoides se preparó el extracto de los nanoencapsulados de propóleo de la siguiente manera:

Preparación de los extractos

Se prepararon los extractos por medio del extractor automatizado de marca EDGE, con una relación de 5 g de muestra de propóleo nanoencapsulado en 20 mL de agua ultra pura.

4.7.1. Determinación de compuestos fenólicos

Se usó la metodología de propuesta por Singleton y Rossi. (1965) con ligeras modificaciones.

Solución de Folin-Ciocalteu 0.25 N

Se usó 25 mL del reactivo Folin-Ciocalteu a 2.0 N y se colocó en una probeta graduada. Luego se colocó a una fiola de 200 mL y se enrazó con agua ultra pura hasta la línea de aforo. Este fue cubierto con papel aluminio y almacenado a 4°C por un tiempo no mayor a una semana.

Solución de Carbonato de Sodio 20%

Se pesó 5 g de carbonato de sodio y se aforó en 25 mL de agua ultra pura.

Solución madre de Ácido gálico

Se pesó 25 mg de ácido gálico para seguidamente diluirlo 250 mL de agua ultra pura, esto nos dio una concentración de 100 mg/L.

A partir de esta solución madre se realizó diluciones como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8*Diluciones para concentración de ácido gálico*

Concentración mg/L de ácido gálico	Volumen de ácido gálico madre (mL)	Volumen de solvente (mL)
5	2.5	47.5
10	5	45
15	7.5	42.5
20	10	40
25	12.5	37.5
30	15	35

Seguidamente para realizar la reacción se tomó 900 µL de ácido gálico y 2400 µL de agua ultra pura donde se realizó un factor de dilución, donde el factor de dilución fue de 3.67. Después se añadió 150 µL de carbonato de sodio, finalmente se añadió 300 µL de Folin-Ciocalteu y se dejó por 15 minutos reaccionando, se trabajó con cuidado de la luz para evitar reacciones, el blanco fue la misma formulación, con la diferencia que ingresó en lugar de la muestra agua ultra pura en las mismas cantidades. Se llevó al espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 755 nm, con esto se construyó la curva de calibración.

Procedimiento para muestras

Una vez construida la curva de calibración se tomó 900 µL de los extractos de propóleo en estudio, se añadió 2400 µL de agua ultra pura para tener un factor de dilución, el factor de dilución fue de 3,67. Después se añadió 150 µL de carbonato de sodio, finalmente se añadió 300 µL de folin-ciocalteu y se dejó reaccionar por 15 minutos, se trabajó con cuidado de la luz para evitar reacciones, el blanco fue la misma formulación, con la diferencia que ingresó en lugar de la muestra agua ultra pura en las mismas cantidades. Se llevó al espectrofotómetro y se leyó la absorbancia a 755 nm.

Se cuantificó los flavonoides de la siguiente manera:

$$Y = Ax + B$$

Donde:

Y: es la absorbancia

X: es la concentración de ácido gálico equivalente (mg/L)

A y B: fueron obtenidos en la curva de calibración

Para expresar el contenido de fenoles totales en mg AGE/g muestra, se utilizó la siguientes formula:

$$\frac{X * V * FD}{M} \dots \text{ec. 3}$$

FD: Factor de dilución = masa inicial/masa final

M: masa del propóleo purificado/encapsulado

X: concentración en mg/L

V: volumen diluido de propóleo/nanoencapsulado

4.7.2. Capacidad antioxidante por método DPPH

Se utilizó el método realizado por Brand-Williams *et al.* (1995), para la determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH con ligeras modificaciones:

Preparación de solución madre de DPPH

La solución madre de DPPH se realizó disolviendo 24 mg de DPPH en 100 mL de metanol al 80%. Esta solución, se almacenó en un frasco ámbar y se refrigeró a 2 °C, por un tiempo no mayor a una semana.

Solución diluida de DPPH

Se retiró la solución madre de refrigeración, la solución diluida se realizó tomando 10 mL de solución madre y 45 mL de metanol, se hizo una lectura de absorbancia a 1.1 ± 0.02 , a longitud de onda de 515 nm, cabe resaltar que se preparó el blanco para calibrar el espectrofotómetro en cero. Toda la solución diluida se conservó en un frasco ámbar.

Preparación de solución madre de Trolox

Para preparar la solución madre de Trolox, se pesó 20 mg de Trolox y se disolvió en 20 mL de metanol al 80% en una fiola.

Soluciones de Trolox

A partir de la solución madre de Trolox con una concentración de 3995.3 $\mu\text{mol/L}$, se preparó soluciones de Trolox a concentraciones como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9

Diluciones a diferentes concentraciones de trolox por DPPH

Solución madre Trolox (mL)	Metanol (mL)	Concentración ($\mu\text{mol/L}$)
3.5	16.5	699.19
3	17	599.31
2.5	17.5	499.42
2	18	399.54
1.5	18.5	299.65
1	19	199.77
0.5	19.5	99.88

En base a estas concentraciones se trabajó la curva de calibración, donde se usó 150 μL de Trolox de las concentraciones determinadas y se le adicionó 2850 μL de la solución madre de DPPH diluida, esto se hizo en un tubo de ensayo protegido de la luz. Al mismo tiempo se preparó un blanco con 150 μL de metanol al 80%, este fue en lugar de la muestra y se adicionó 2850 μL de la solución madre de DPPH diluida. Se dejó reaccionar por 15 minutos, y se llevó al espectrofotómetro a 515 nm para realizar las lecturas.

Procedimiento para lectura de capacidad antioxidante de la muestra

Se calibró el espectrofotómetro a cero con metanol al 80%. Se midió la absorbancia de la solución diluida de DPPH a 515 dando una lectura aproximada de $1,1 \pm 0,02$.

Con una micropipeta se tomó 150 µL de extracto de la muestra y se adicionó 2850 µL de la solución madre de DPPH diluida, esto se realizó en un tubo de ensayo protegido de la luz. Al mismo tiempo se preparó un blanco con 150 µL de metanol al 80%, este se añadió en lugar de la muestra y se adicionó 2850 µL de la solución madre de DPPH diluida. Se dejó reaccionar por 15 minutos y se llevó al espectrofotómetro a 515 nm para realizar las lecturas.

La disminución de la absorbancia debido a los antioxidantes se calculó de la siguiente manera:

$$\Delta\text{DPPH} = \text{DPPH}_d - (A_{515})_{\text{muestra}} \dots \text{ec. 4}$$

Δ DPPH: Es la disminución de la absorbancia debida a los antioxidantes.

DPPH_d: Es la absorbancia de DPPH debida al efecto de dilución con 150 µL de muestra (este valor esta alrededor de 1.03 cuando la media es a 515 nm). Este control puede cambiar durante el experimento y no debe ser mayor al 5%.

A₅₁₅: Es la absorbancia a 515 nm de la muestra después de la reacción.

-La capacidad antioxidante se calculó usando una curva estándar de Trolox, y los resultados se expresan como µmol de Trolox equivalente/g de muestra.

$$\text{Trolox Eq.} = (bX) * (0.25) * (\text{mL del extracto/g de muestra}) \dots \text{ec. 5}$$

Trolox Eq.: µmol Equivalente Trolox / g muestra

bX: Proviene de la curva estándar. La curva estándar puede también ser expresado como bX.

4.7.3. Capacidad antioxidante por método ABTS

La metodología que se siguió para determinar capacidad antioxidante fue según Rivas et al. (2020) donde se realizó ligeras modificaciones de acuerdo a las condiciones de trabajo:

Preparación de ABTS y persulfato de potasio

Se pesó 0.192 g de ABTS, luego se diluyó en 50 mL de agua ultra pura para tener una concentración 7 mM, se pesó 0.0165 g de persulfato de potasio y se diluyó en 25 ml de agua ultra pura para tener una concentración de 2.45 mM Esto deberá estar protegido de la luz.

Mezcla de ABTS y persulfato de potasio (ABTS+)

Se tomó los 50 mL de solución de ABTS, luego se añadió 500 μ L de persulfato de potasio, se dejó reaccionar durante 12 horas a temperatura ambiente, se tuvo una absorbancia de 0.7 ± 0.1 , si la absorbancia es mayor se tiene que bajar con etanol al 96%.

Preparación de Trolox

Se trabajó con una solución madre de 1000 μ mol/L, donde se pesó 0.01251 g de Trolox y se diluyó en etanol al 96% en 50 mL de volumen.

Concentraciones diluidas de Trolox

Se trabajó mediante la Tabla 10 donde muestran las concentraciones.

Tabla 10

Concentraciones de trolox para ABTS

Concentración μ mol/L	v. solución madre (mL)	v. etanol 96%(mL)
50	0.5	9.5
100	1	9
200	2	8
400	4	6
600	6	4
80	8	2

Finalmente se tomó 0.3 mL de muestra + 2.7 mL de ABTS+, se dejó reaccionar por 15 minutos para llevar al espectrofotómetro, donde se midió la absorbancia a 734 nm, con esto se construyó la curva de calibración. También se puso a

cero el espectrofotómetro con etanol al 96% y el blanco de corrección fue 0.3 mL de etanol + 2.7 mL de ABTS+.

Determinación de capacidad antioxidante por ABTS para muestra

Una vez se tenga la curva de calibración, se trabajó con la muestra, en este caso se usaron los nanoencapsulados, donde se tomó 0.3 mL de muestra y 2.7 de ABTS+, se dejó reaccionar por 15 minutos y se tomó la lectura en el espectrofotómetro a 734 nm, se protegieron las muestras de la luz usando frascos ámbar o en algunos casos se forraron con papel aluminio.

La disminución de la absorbancia debido a los antioxidantes se calculó de la siguiente manera:

$$\Delta ABTS = ABTS_d - (A_{734})_{muestra} \dots ec. 6$$

Δ ABTS: Es la disminución de la absorbancia debida a los antioxidantes.

ABTS_d: Es la absorbancia de ABTS debida al efecto de dilución con 0.3 mL de muestra (el valor esta alrededor de 0.7 cuando la media es a 734 nm). Este control puede cambiar durante el experimento y no debe ser mayor al 5%.

A₇₃₄: Es la absorbancia a 734 nm de la muestra después de la reacción.

-La capacidad antioxidante se calculó usando la curva estándar de Trolox, y los resultados se expresan como μ mol de Trolox equivalente/g de muestra.

$$\text{Trolox Eq.} = (bX) * (0.25) * (\text{mL del extracto/g de muestra}) \dots ec. 7$$

Trolox Eq.: μ mol Equivalente Trolox / g muestra

bX: Proviene de la curva estándar. La curva estándar puede también ser expresado como bX.

4.7.4. Determinación flavonoides

Para determinar el contenido de flavonoides en los extractos se usó el método de Popova et al. (2004) con ligeras modificaciones.

Se preparó cloruro de aluminio al 5% en 50 mL de etanol al 70%, donde se pesó 2.5 g de cloruro de aluminio, se preparó etanol al 70% y metanol al 80% en volúmenes de 50 y 100 mL respectivamente.

Para la curva de calibración se utilizó quercetina, donde se pesó 100 mg de quercetina y se diluyó en 10 ml de metanol al 80%, la concentración de esta solución fue de 10 mg/mL (solución madre).

Se trabajó con diluciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/mL en fiola de 10 mL, finalmente se tomó 90 μ L de la solución diluida de quercetina, 1.91 ml de metanol al 80%, 0.1 mL cloruro de aluminio al 5% y finalmente se añadió 2.9 ml de metanol al 80%, se dejó reposar durante 10 minutos, los materiales de trabajo se cubrieron contra la luz y se llevó al espectrofotómetro para leer la absorbancia a 425 nm. El blanco fue la misma formulación, con la diferencia que se cambió los 90 μ L de la solución diluida de quercetina por metanol a la misma cantidad. Mediante la Tabla 11 se da a conocer mejor las diluciones:

Tabla 11

Concentraciones para flavonoides

Concentración mg/mL	v. solución madre (mL)	v. metanol 80%(mL)
0.2	0.2	9.8
0.4	0.4	9.6
0.6	0.6	9.4
0.8	0.8	9.2
1.0	1.0	9
1.2	1.2	8.8

Se realizó las lecturas del contenido de flavonoides de las muestras de propóleo, donde se usó 90 μ L de muestra, 1.91 mL de metanol al 80%, 0.1 mL cloruro de aluminio al 5% y finalmente se añadió 2.9 mL de metanol al 80%, se dejó reposar durante 10 minutos (siempre cubiertos contra la luz) y se llevó al espectrofotómetro para leer la absorbancia a 425 nm. El blanco fue la misma formulación, con la diferencia que se cambió los 90 μ L de muestra por metanol a la misma cantidad.

La cuantificación de flavonoides se construyó a partir de:

$$Y = Ax - B$$

Donde:

Y: es la absorbancia

X: es la concentración de quercetina en mg/mL

Para expresar la concentración de flavonoides en mg/g se realizó lo siguiente:

$$\text{Contenido de flavonoides} = x * \left(\frac{V}{M}\right) \dots \text{ecuación 8}$$

X: concentración de flavonoides en mg/mL

V: volumen de solución de propóleo/muestra

M: masa en de propóleo/ nanoencapsulado usado para dilución

4.7.5. Determinación de rendimiento de encapsulación

El rendimiento se determinó de acuerdo a la relación entre, la masa de sólidos secos obtenidos y el contenido inicial de sólidos totales que entran en el secador por aspersión (propóleo, maltodextrina y goma arábica). Finalmente se representó en porcentaje, de acuerdo a la siguiente relación:

$$\%R = \frac{m_2}{m_1} * 100 \dots \text{ec. 1}$$

Donde:

%R: es el rendimiento en porcentaje.

m_1 : masa inicial (Contenido inicial de propóleo, maltodextrina y goma arábica) en g.

m_2 : masa final (Contenido final del encapsulante) en g.

4.7.6. Determinación de color

Se midió el color de los nanoencapsulados en el colorímetro de marca Konica Minolta modelo CR-5 (Tokio, Japón), las muestras fueron colocada en placas diseñadas para este estudio, se deberá llenar las placas para evitar la reflexión, los reportes serán en los espacios L^* , a^* y b^* .

4.7.7. Determinación de actividad de agua (a_w)

Se determinó la actividad de agua empleando el determinador de actividad de agua de marca Rotronic, modelo HygroPalm23-AW (Bassersdorf, Suiza).

4.7.8. Determinación de humedad

Se determinó el contenido de humedad por el método descrito por García y Fernández (2012), por la diferencia de peso de la muestra inicial y la muestra final, secadas en estufa de convección forzada de marca Binder a 105 °C.

$$\%H_{bs} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \dots \text{ec. 2}$$

$\%H_{bs}$ = porcentaje de humedad en base húmeda

m_1 = masa inicial

m_2 = masa final

• Identificación grupos funcionales

Se realizaron pellets con 200 mg de KBr y 20 mg de muestra, homogenizado en un mortero de ágata, los pellets se formaron a 10 t en una prensa manual.

Se realizaron lecturas en el módulo de transmisión, a 32 barridos, 8 cm^{-1} de resolución, rango medio del infrarrojo (4000-400 cm^{-1}), utilizando como fondo el pellet de KBr, los grupos funcionales fueron identificados mediante el espectrofotómetro por transformada de Fourier, de marca Thermo Fisher modelo Nicolet IS50.

- **Microfotografías estructurales**

Las microfotografías estructurales de los nanoencapsulados de propóleo fueron analizados mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM) Prisma E (Thermo Fisher, Massachusetts, USA), a un voltaje de aceleración de 30 kV y un aumento de 10000x. Donde se usó cinta de carbono microscópico que es muy buen conductor, esta cinta se cortó a la medida del porta muestras, seguidamente se colocó la muestra de propóleo encima de la cinta y procedió a visualizar la estructura del material. Se usó el Detector Everhart-Thornley (ETD) para obtener tomas fotográficas más enfocadas.

- **Tamaño de partícula (DLS)**

Se dispersó 4 mg de la muestra en 5 mL de agua ultrapura, se agitó a 1000 rpm durante 5 min, luego se ultrasonicó por 10 min a temperatura ambiente. Se tomó una alícuota en un capilar, donde se determinó la distribución hidrodinámica del diámetro y tamaño por dispersión dinámica de luz (DLS), utilizando el equipo marca Nicomp nano ZLS, Z3000 (Massachusetts, MA, EUA).

4.8. Diseño experimental (variable y pruebas estadísticas).

Para este trabajo de investigación se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), la Tabla 12 muestra los tratamientos que se realizaron:

Tabla 12*Tratamientos para DCA*

Variables independientes	Variables dependientes		
	Flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	Rendimiento, humedad, actividad de agua y color	Grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula
Nanoencapsulados	Tratamientos	Tratamientos	Tratamientos
	T1,1 A	T1,1 B	T1,1 C
Nanoencapsulado de Huinchos	T1,2 A	T1,2 B	T1,2 C
	T1,3 A	T1,3 B	T1,3 C
Nanoencapsulado de Chaccamarca	T2,1 A	T2,1 B	T2,1 C
	T2,2 A	T2,2 B	T2,2 C
	T2,3 A	T2,3 B	T2,3 C
Nanoencapsulado de Cuncataca	T3,1 A	T3,1 B	T3,1 C
	T3,2 A	T3,2 B	T3,2 C
	T3,3 A	T3,3 B	T3,3 C

Donde:

- T1, fue el tratamiento de la muestra proveniente de Huinchos.
- T2, fue el tratamiento de la muestra proveniente de Chaccamarca.
- T3, fue el tratamiento de la muestra de Cuncataca.
- A, que pertenece a los estudios de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.
- B, que pertenece a los estudios de rendimiento, humedad, actividad de agua y color.
- C, que pertenece a los estudios de grupos funcionales, microfotografías, y tamaño de partícula.

Todos los tratamientos se realizaron en las mismas condiciones, se manipuló los propóleos de diferentes procedencias lo que define como DCA.

Para la prueba estadística se tuvo dos hipótesis que fueron la nula y alterna, la nula no muestra diferencias significativas entre los tratamientos de propóleo, la alterna si muestran diferencias significativas entre los tratamientos de propóleo. Se realizó un análisis de varianza (ANVA) para probar la hipótesis nula, donde el nivel de significancia fue de 5%, entonces se realizó la siguiente formulación de hipótesis:

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$$

$$H_A: \tau_i \neq 0; \text{ para algún } i \neq j$$

El criterio de aceptación de la hipótesis nula fue si el valor $p > 0.05$, indica que los tratamientos no muestran diferencia significativa, mientras que, si rechazamos la hipótesis nula, se acepta la hipótesis alterna se va a la prueba de rangos múltiples (LSD) donde se planteó lo siguiente:

$$H_0: t_i = t_j$$

$$H_A: \tau_i \neq U_j \text{ para todo } i \neq j$$

CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Contenido de flavonoides totales, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en nanoencapsulados de propóleo

5.1.1. Cuantificación de flavonoides totales

Los resultados se presentan en la Tabla 13, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 1), los valores del contenido de flavonoides estuvieron entre 1.81 y 2.26 mg de quercetina/g de muestra, el nanoencapsulado de propóleo de Cuncataca presentó mayor contenido de flavonoides.

Tabla 13

Contenido de flavonoides totales (mg quercetina/g)

Contenido de flavonoides totales	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	1.81	\pm	0.03	1.60	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	2.23	\pm	0.04	1.82	B
Nanoencapsulado de Cuncataca	2.26	\pm	0.05	2.03	B

Nota: donde \bar{x} promedio muestral, S: desviación estandar muestral, CV: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Mayores reportes presentaron Santana et al. (2018), para encapsulados de propóleos procedentes de Brasil, los valores fueron de 2.76 y 2.88 mg de quercetina/g de muestra, además de ello realizaron el encapsulado en las mismas matrices, también mencionan que la actividad antioxidante del propóleo tiene relación con el contenido de compuestos fenólicos.

Por otra parte, Bankova et al. (2005), reportaron mayores cantidades de flavonoides totales en encapsulados de propóleo de India, los resultados variaron de 25.50 y 57.25 mg de quercetina/g de muestra, señalan que la composición del propóleo cambia de acuerdo a la floración, condiciones geográficas, climas, entre otros.

Funari (2005), menciona que la composición del propóleo cambia de acuerdo a las regiones, a el medio de vida de estas, a las épocas de colecta, a el entorno ecológico y las especies vegetales de donde se recogen las resinas.

5.1.2. Cuantificación compuestos fenólicos

Los resultados se presentan en la Tabla 14, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 2), los valores del contenido de compuestos fenólicos totales estuvieron entre 1.76 y 3.38 mg de ácido gálico equivalente/g de muestra, el nanoencapsulado de propóleo de Cuncatata presentó mayor contenido de compuestos fenólicos.

Tabla 14

Contenido de compuestos fenólicos totales (mg ácido gálico equivalente/g)

Contenido de compuestos fenólicos	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	2.70	\pm	0.01	0.38	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	1.76	\pm	0.04	2.10	B
Nanoencapsulado de Cuncatata	3.38	\pm	0.01	0.34	C

Nota: donde \bar{x} promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza

Busch et al. (2017), reportaron menores cantidades que variaron entre 1.67 y 2.60 mg de ácido gálico equivalente/g de muestra. Mientras que Pant et al. (2022), reportaron mayores cantidades que tuvieron variación de 20.98 y 30.91 mg de ácido gálico equivalente/g de muestra, así mismo mencionaron que los compuestos fenólicos se degradan mientras la temperatura sea más alta.

También estos compuestos varían de acuerdo a la floración, condiciones geográficas, climas, entre otros, por tal motivo el contenido de compuestos fenólicos de los nanoencapsulados cambia de acuerdo a su procedencia.

Por otro lado, Bodini et al. (2013) menciona que el propóleo posee mayor contenido de compuestos fenólicos. Sin embargo, los flavonoides tienen relación proporcional con estos compuestos.

5.1.3. Capacidad antioxidante

Capacidad antioxidante por el método DPPH

Los resultados se presentan en la Tabla 15, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 3), los valores de capacidad antioxidante oscilaron entre 10.36 y 12.55 μmol de Trolox equivalente/g de muestra, el nanoencapsulado de propóleo de Cuncatata presentó mayor capacidad antioxidante.

Tabla 15

Capacidad antioxidante por DPPH (μmol de Trolox equivalente/g)

Capacidad antioxidante DPPH	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	11.46	\pm	0.33	2.87	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	10.36	\pm	0.42	4.01	B
Nanoencapsulado de Cuncatata	12.55	\pm	0.21	1.70	C

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Capacidad antioxidante por el método ABTS

Los resultados se presentan en la Tabla 16 donde podemos apreciar diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 4), los valores de capacidad antioxidante variaron entre 2.03 y 2.33 μmol de Trolox equivalente/g de muestra, el nanoencapsulado de propóleo de Cuncatata presentó mayor capacidad antioxidante.

Tabla 16*Capacidad antioxidante ABTS ($\mu\text{mol de Trolox equivalente/g}$)*

Capacidad antioxidante ABTS	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	2.03	\pm	0.11	5.30	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	2.17	\pm	0.07	3.23	AB
Nanoencapsulado de Cuncataca	2.33	\pm	0.05	2.27	B

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Los resultados que obtuvieron Santana et al. (2018), se relacionan con el presente trabajo de investigación y a la vez son mayores, para capacidad antioxidante por DPPH presentaron valores que oscilaron entre 22.84 y 24.69 $\mu\text{mol de Trolox equivalente/g}$ de muestra, para capacidad antioxidante por ABTS presentaron valores de 10.62 y 15.11 $\mu\text{mol de Trolox equivalente/g}$ de muestra.

Santana et al. (2017) afirma que la actividad antioxidante está relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, es por ello que la capacidad antioxidante también varía por causa de la floración, condiciones geográficas, climas, entre otros, en base a este argumento se testifica que hay variación de la capacidad antioxidante, los resultados de esta investigación variaron de método a método Georgiev et al. (2010), indica que esto se relaciona porque los radicales DPPH y ABTS presentan diferentes naturalezas.

5.2. Rendimiento, humedad, actividad de agua y color

5.2.1. Resultados de rendimiento de nanoencapsulados

Los resultados se presentan en la Tabla 17, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 5), los valores del porcentaje de rendimiento oscilaron entre 61.27 y 69.40 % de propóleo nanoencapsulado, el mejor rendimiento es del nanoencapsulado de propóleo de Huinchos.

Tabla 17*Rendimiento expresado en %*

Rendimiento	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	69.40	\pm	1.41	2.03	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	63.87	\pm	1.89	2.96	B
Nanoencapsulado de Cuncataca	61.27	\pm	1.39	2.26	B

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Busch et al. (2017), presentaron menores resultados que oscilaron entre 60 y 68 %, así mismo Šturm et al. (2019), evidenciaron mayores porcentajes de rendimiento con valores de 69 y 70 %. Esto muestra que el rendimiento de encapsulación del propóleo mediante secado por aspersión presenta poca pérdida de material.

5.2.2. Humedad de nanoencapsulados

Los resultados se presentan en la Tabla 18, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 6). Los valores del contenido de humedad estuvieron en los rangos de 4.93 a 6.26 %, el nanoencapsulado de propóleo de Chaccamarca presentó menor porcentaje en contenido de humedad.

Tabla 18*Contenido de Humedad en %*

Contenido de humedad	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	6.26	\pm	0.53	8.48	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	3.84	\pm	0.52	13.59	B
Nanoencapsulado de Cuncataca	4.93	\pm	0.19	3.90	C

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Da Silva et al. (2013) presentaron valores mayores entre los rangos de 4.9 y 12.6 % de humedad, Santana et al. (2018) reportaron mayores valores de 5.84 y 9.96 % de humedad, así mismo Šturm et al. (2019), evidenciaron menores valores de 2.4 y 4.7 % de humedad, esto indica que presentan contenidos de humedad bajos y buenas condiciones para su conservación.

5.2.3. Actividad de agua de nanoencapsulados

Los resultados se presentan en la Tabla 19, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 7), los valores de actividad de agua estuvieron en los rangos de 0.24 y 0.30, el nanoencapsulado de propóleo de Chaccamarca presentó menor actividad de agua.

Tabla 19

Valores de actividad de agua

Actividad de agua	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	Significancia
Nanoencapsulado de Huinchos	0.30	\pm	0.004	1.34	A
Nanoencapsulado de Chaccamarca	0.24	\pm	0.004	1.66	B
Nanoencapsulado de Cuncataca	0.28	\pm	0.01	2.51	C

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Del mismo modo Santana et al. (2018), reportaron mayores valores de actividad de agua entre 0.24 y 0.36, Busch et al. (2017), reportaron menores valores entre 0.22 y 0.23 de actividad de agua, Da Silva et al. (2013) reportaron mayores valores de actividad de agua entre 0.25 a 0.39, lo que indica que los nanoencapsulados poseen poca disponibilidad de agua libre para desarrollo de microorganismo, pardeamiento enzimático, proliferación de hongos y oxidación de grasas.

5.2.4. Color de nanoencapsulados

Los resultados se presentan en la Tabla 20, se aprecia diferencia significativa (valor $p < 0.05$ - Anexo 8), los valores de L oscilaron entre 91.48 y 92.25 que indica una tendencia a blanco, los valores de a^* oscilaron entre - 0.62 y - 0.71, que indica la tendencia a verde, los valores para b^* oscilaron entre 5.98 y 7.46 donde indica la tendencia a amarillo. El nanoencapsulado de Cuncataca presentó mejor luminosidad y coloración cercana a blanco.

Tabla 20

Resumen estadístico para color

Color de nano-encapsulados	L				a^*				b^*				Significancia		
	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	\bar{x}	\pm	S	CV (%)	L	a^*	b^*
Huinchos	91.48	\pm	0.04	0.04	-0.62	\pm	0.006	-0.94	7.46	\pm	0.33	4.48	A	A	A
Chaccamarca	91.66	\pm	0.01	0.01	-0.71	\pm	0.01	-1.41	6.44	\pm	0.04	0.59	B	B	B
Cuncataca	92.25	\pm	0.01	0.01	-0.66	\pm	0.006	-0.88	5.98	\pm	0.02	0.26	C	C	C

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estándar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad, letras diferentes indican diferencia significativa, evaluadas a través de la prueba de Fisher con un 95% de confianza.

Da Silva et al. (2013) reportaron valores más bajos en cuanto a L, 86.31 y 89.14, mencionando que la coloración de los nanoencapsulados tuvo tendencia a amarillo pálido. Los nanoencapsulados de la presente investigación tuvieron mayores valores de luminosidad indicando que los nanoencapsulados tuvieron coloración cercana a blanco.

5.3. Grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula

5.3.1. Grupos funcionales

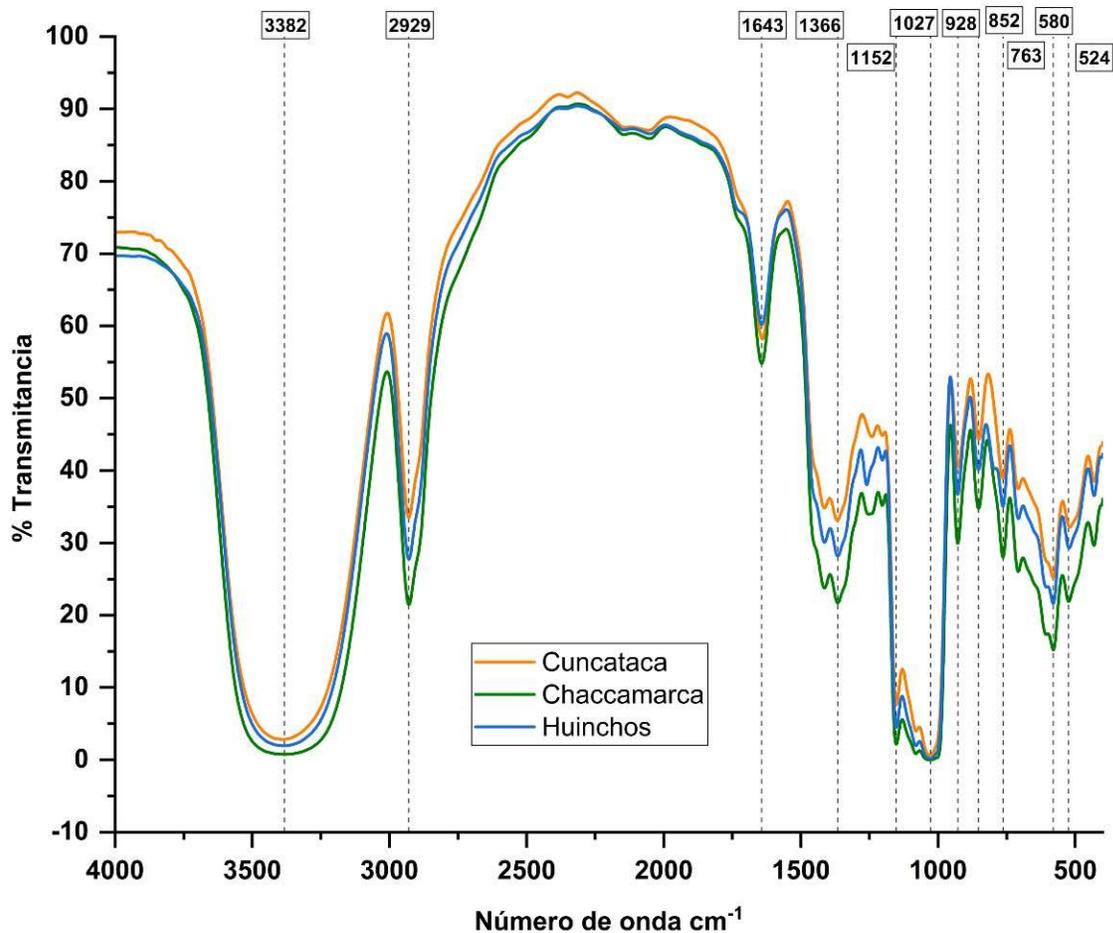
Los grupos funcionales de los nanoencapsulados de propóleo, se realizaron por el módulo de transmisión, a 32 barridos, 8 cm^{-1} de resolución, rango medio del infrarrojo ($4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$), utilizando como fondo el pellet de KBr. Donde se observó picos desde los 3382 a 524 cm^{-1} , además de ellos los espectros fueron similares para los nanoencapsulados. El pico 3382 cm^{-1} muestra la existencia del grupo hidroxilo que indica la presencia de compuestos polifenólicos, agua y carbohidratos, 2929 cm^{-1} da la referencia al estiramiento del metileno C-H

asimétrico del carbohidrato, 1643 cm^{-1} estiramiento C=C del alqueno indicando la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, 1366 cm^{-1} se ve la presencia del grupo metilo - gem-dimetil o iso doblete que indican la presencia de compuestos antioxidantes, 1152 cm^{-1} alcohol terciario tramo C-O indican la presencia de alcoholes, ésteres, ácidos carboxilos que evidencia la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides, 1027 cm^{-1} la presencia de siloxano o silicona orgánica, en el tramo 928 cm^{-1} a 524 cm^{-1} están atribuidos a la presencia de los compuestos fenólicos.

La Figura 9 muestra los espectros IR de los nanoencapsulados de propóleo.

Figura 9

Espectros IR para nanoencapsulados de propóleo



Pant et al. (2022), presentaron similar espectro en los nanoencapsulado de propóleo, en el pico 3274 cm^{-1} , identificaron el estiramiento del grupo hidroxilo y amino, esto da referencia a la existencia de polifenoles, carbohidratos y la posibilidad de proteína y agua, en el pico 2924 cm^{-1} , identificaron estiramiento asimétrico de enlaces C-H y NH₃, que hace referencia a la banda de aminoácidos libres y ácidos carboxílicos, en la región $1700\text{ a }1600\text{ cm}^{-1}$ hablaron sobre el estiramiento de los grupos carbonilo, grupos cetona y vibración estiramiento C=C, que tiene relación con la presencia de lípidos, flavonoides, compuestos fenólicos, también se hace mención sobre la región $1800\text{ y }1100\text{ cm}^{-1}$, que hablaron particularmente del grupo C=O, donde se puede identificar a los flavonoides y lípidos en el propóleo, también hablaron del pico 1636 cm^{-1} , que representa la presencia de compuestos antioxidantes, como flavonoides en los propóleos. En la región $1300\text{ y }1100\text{ cm}^{-1}$, mostraron que existe estiramiento de C-O y también la flexión de los grupos C-OH, que son los éteres, ésteres, alcoholes y ácidos carboxílicos, que evidencian la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides en los propóleos. En la región $900\text{ a }690\text{ cm}^{-1}$, que hacen referencia a las vibraciones de estiramiento y flexión de los grupos C-H que se asocia a la presencia de compuestos fenólicos.

Los nanoencapsulados de la presente investigación mostraron picos similares y muy cercanos a los de referencia, evidenciando que los nanoencapsulados presentan diversos grupos funcionales referentes a compuestos fenólicos.

5.3.2. Microfotografías estructurales

Las microfotografías estructurales del nanoencapsulado de propóleo de Huinchos (Figura 10), mostraron la formación de capsulas esféricas y de tamaños heterogéneos, algunos tuvieron deformaciones debido a la velocidad de encapsulación que existe en el secado por aspersion. En el caso de los nanoencapsulados de propóleo de Chaccamarca (Figura 11), se observó la formación de capsulas esféricas más definidas que las de Huinchos, también algunas estructuras presentaron abolladuras y tamaños heterogéneos, las microfotografías del nanoencapsulado de propóleo de Cuncataca (Figura 12),

mostraron formación de capsulas esféricas de tamaños heterogéneos, para los tres casos se observó que hay aglomeraciones en diversos puntos, esto es característico en el secado por aspersion debido a la velocidad de encapsulación.

Figura 10

Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado

Huinchos

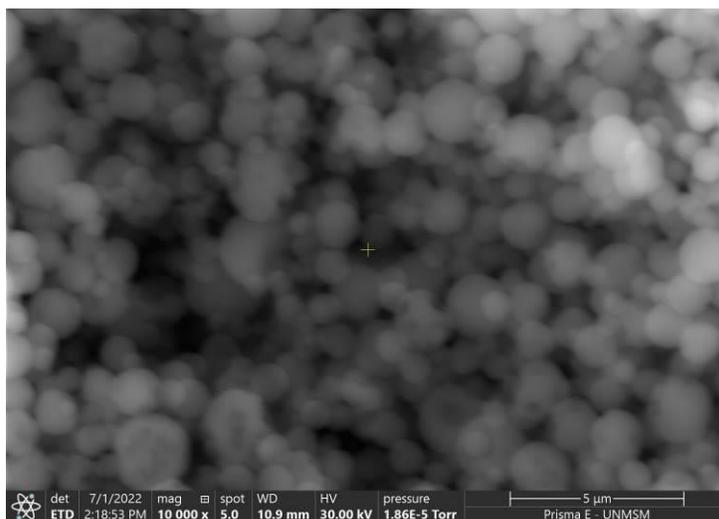


Figura 11

Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado

Chaccamarca

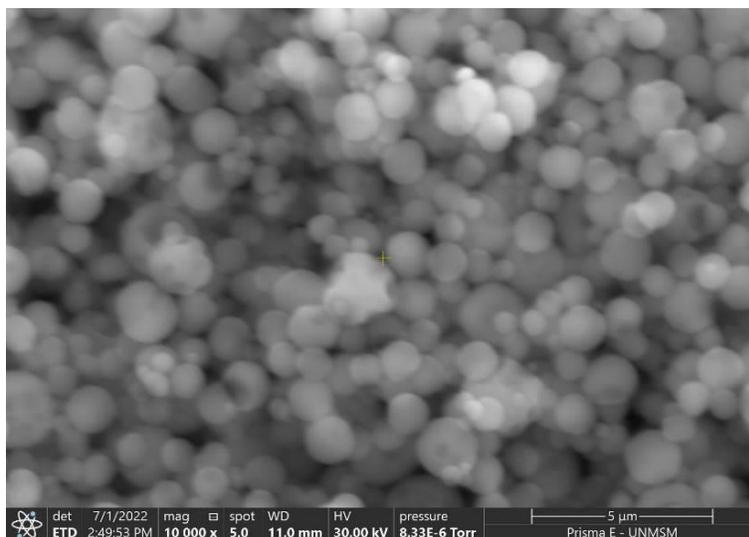
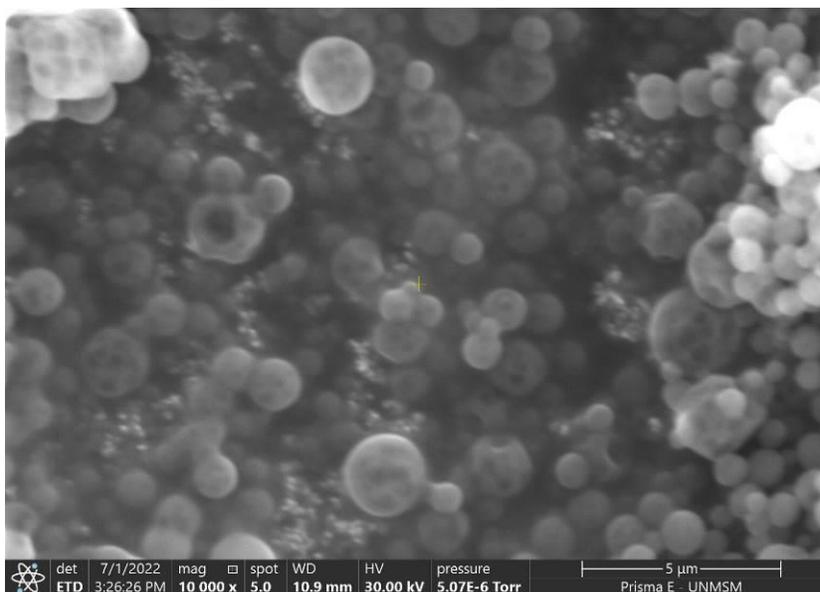


Figura 12

Microfotografía estructural de nanoencapsulado de propóleo del centro poblado

Cuncataca



similares microfotografías presentaron Santana et al. (2018), donde vieron la formación de esferas con tamaños heterogéneos, también observaron que las partículas más pequeñas se aglomeraban cerca de las partículas grandes, esto sucede porque es una característica que se da a menudo en la atomización. Da silva et al. (2013), tuvieron microfotografías estructurales similares, además indican que las abolladuras se deben a la evaporación rápida del líquido en la atomización, Busch et al. (2017), presentaron nanocapsulas menos homogénea en comparación con el presente trabajo de investigación.

En la investigación se evidenció mayor formación de partículas nanoencapsuladas, esto también se atribuye a que se trabajó a nivel nanométrico.

5.3.3. Tamaño de partícula

Los resultados se muestran en la Tabla 21, se aprecia que los propóleos de Huinchos y Cuncataca presentan dos picos con respecto al tamaño de partícula mediante la distribución NICOMP, los tamaños de partícula para los

nanoencapsulados oscilaron entre 204.4 y 266.7 nm mediante la distribución Gaussiana, donde el nanoencapsulado de Huinchos presenta menor media con respecto al tamaño. El coeficiente de variación tuvo dispersión de datos debido a la formación de diferentes tamaños de nanocapsulas.

Tabla 21

Tamaño de partícula nanoencapsulados

Tamaño de partícula	Distribución NICOMP			Distribución Gaussiana			
	Pico	Tamaño de partícula (nm)	%	\bar{x}	\pm	S	CV (%)
Nanoencapsulados de Huinchos	1	123.4	48.61	204.4	\pm	129.0	63.11
	2	562.6	51.39				
Nanoencapsulados de Chaccamarca	1	228.8	100	266.7	\pm	149.9	56.21
Nanoencapsulados de Cuncataca	1	11.1	0.60	222.4	\pm	106.3	47.80
	2	194.4	99.40				

Nota: donde \bar{x} : promedio muestral, S: desviación estandar muestral, Cv: coeficiente de variabilidad.

Santana et al. (2018), reportaron valores de micropartículas de propóleo encapsulado de 1 a 18 μm , Da Silva et al. (2013), reportaron medidas de 15 a 24 μm , los nanoencapsulados de la presente investigación mostraron menor tamaño debido a que se trabajó a nivel nanométrico, estas medidas se relacionan como 1 μm equivale a 1000 nm, por lo que podríamos decir que los tamaños de partícula que reportamos son mucho más pequeños que los referenciados. Además de ello Poon y Haw (1997), mencionan que por medio de la dispersión dinámica de luz se puede evidenciar información sobre la estructura de un material en una escala mesoscópica normalmente de 100 a 1000 nm.

5.4. Correlograma de Pearson

En la Figura 13 se presenta el Correlograma de Pearson, donde se muestra la relación que existe entre las propiedades estudiadas de la siguiente manera:

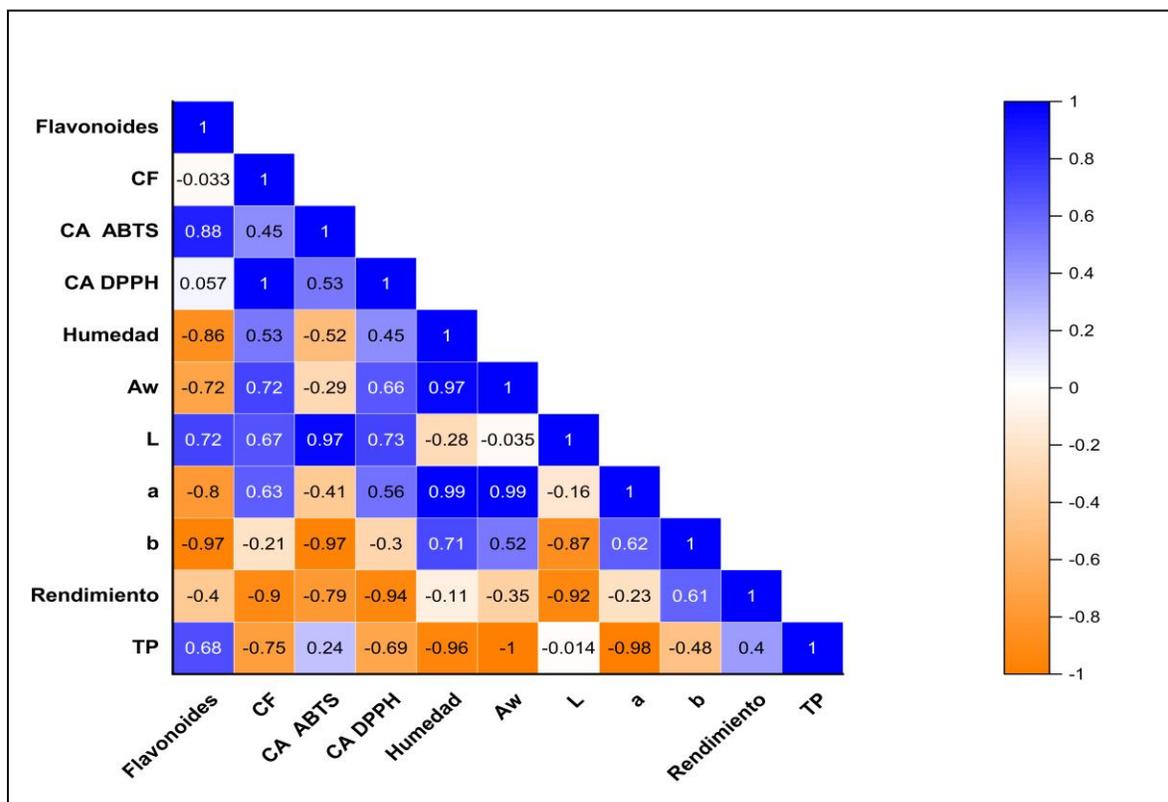
- Flavonoides: tiene una fuerte relación positiva con tamaño de partícula, luminosidad y capacidad antioxidante por ABTS. Hay una correlación débil

positiva con capacidad antioxidantes por DPPH, para humedad, Aw y croma a*, b* hay una fuerte correlación negativa, con relación a rendimiento y para compuestos fenólicos hay una débil correlación negativa.

- Compuestos fenólicos: presenta una correlación positiva perfecta con capacidad antioxidante por DPPH, correlación positiva fuerte con humedad, Aw, luminosidad, croma a*, correlación positiva débil con capacidad antioxidante por ABTS, fuerte correlación negativa con rendimiento y tamaño de partícula, débil correlación negativa con croma b*.
- Capacidad antioxidante por ABTS: muestra una fuerte correlación positiva con luminosidad y capacidad antioxidante, correlación débil positiva con tamaño de partícula, una fuerte correlación negativa con rendimiento, croma b* y humedad, una débil correlación negativa con Aw y croma a*.
- Capacidad antioxidante por DPPH: presenta una correlación positiva fuerte con Aw, luminosidad y croma a*, débil correlación positiva con humedad, fuerte correlación negativa con rendimiento y tamaño de partícula, baja correlación negativa con croma b*.
- Humedad: muestra una fuerte correlación positiva con Aw, croma a* y b*, fuerte correlación negativa con tamaño de partícula, débil correlación negativa con rendimiento y luminosidad.
- Actividad de agua: presenta fuerte correlación positiva con croma a* y b*, correlación negativa perfecta con tamaño de partícula, débil correlación negativa con rendimiento y luminosidad.
- Luminosidad: muestra fuerte correlación negativa con rendimiento y croma b*, débil correlación negativa con el tamaño de partícula y croma a*.
- Croma a*: fuerte correlación negativa con tamaño de partícula, fuerte correlación positiva con croma b*, débil correlación negativa con rendimiento.
- Croma b*: fuerte correlación positiva con rendimiento y débil correlación negativa con tamaño de partícula.
- Rendimiento: presenta débil correlación positiva con tamaño de partícula.

Figura 13

Correlograma de Pearson para propiedades de los nanoencapsulados de propóleo



Dónde: TP: tamaño de partícula, CF: compuestos fenólicos, CA: capacidad antioxidante, L: luminosidad, a y b: croma a* y b* (color)

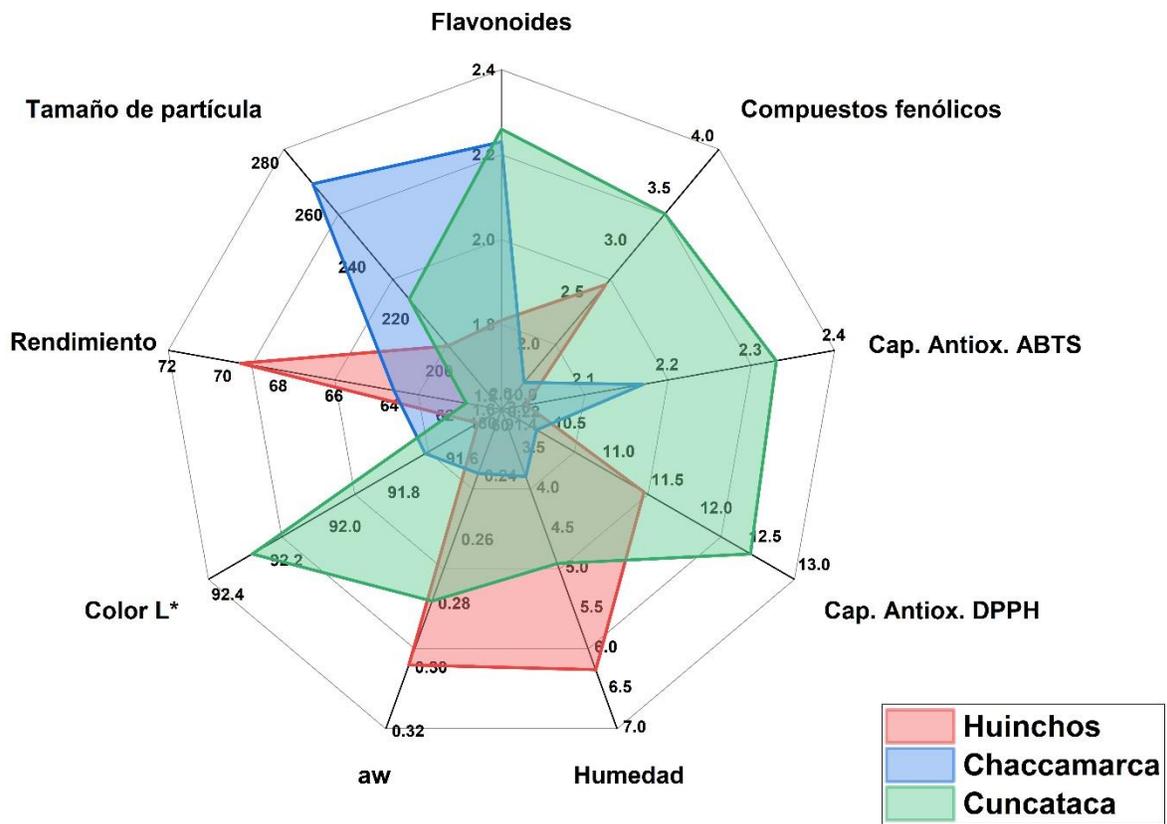
Suárez (2011), menciona que el coeficiente de correlación de Pearson muestra la relación que hay entre dos variables, presentan límites de +1 a -1 (Anexo 32) y el valor $r = 0$ señala que no hay relación entre las variables.

5.5. Diagrama de radar para nanoencapsulados

En la Figura 14 se muestra el diagrama de radar de las propiedades estudiadas, teniendo al mejor poseedor de propiedades al nanoencapsulado de Cuncatoca debido a que posee mejor contenido de flavonoides, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, humedad, actividad de agua y color.

Figura 14

Diagrama de radar para propiedades estudiadas



CAPITULO VI:

CONCLUSIONES:

Se logró evaluar el comportamiento de la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.

Se determinó el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina, teniendo como mejor poseedor al nanoencapsulado de Cuncatata.

Se determinó el rendimiento, humedad, actividad de agua y color de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina, teniendo como mejor poseedor de rendimiento al nanoencapsulado de Huinchos, humedad y actividad de agua al nanoencapsulado de Chaccamarca y color al nanoencapsulado de Cuncatata.

Se determinó los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina, teniendo diversos grupos funcionales como la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, carbohidratos y agua, presencia de formación de nanocapsulas esféricas y tamaño de partícula en escala nanométrica.

Finalmente, el nanoencapsulado de propóleo de Cuncatata fue el mejor debido a que presentó características muy buenas lo que permitiría usarlo en las industrias alimentarias.

RECOMENDACIONES:

- Usar ultra-turrax para lograr mejor homogenización de las partículas.
- Realizar más investigaciones de nanoencapsulación del propóleo, evaluando el comportamiento de estos nanoencapsulados como aditivos en alimentos.
- Realizar más estudios a los propóleos del Perú para despertar un mayor interés de este producto en el mercado.
- Realizar la nanoencapsulación de propóleo en medios encapsulantes de almidones nativos y almidones modificados, para visualizar la encapsulación con otros medios encapsulantes.
- Realizar la encapsulación por liofilización para comparar que técnica es la más adecuada.
- Usar la técnica de Spray Dryer para la encapsulación debido a que es bastante eficiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, J. A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest biology and technology*, 15(3), 207-225.
- Alencar, SM, Oldoni, TLC, Castro, ML, Cabral, ISR, Costa-Neto, CM, Cury, JA, Ikegaki, M. (2007). Composición química y actividad biológica de un nuevo tipo de propóleo brasileño: propóleo rojo. *Diario de Etnofarmacología*, 113 (2), 278-283. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.005>
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., . . . Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695-1703. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Aherne, S. A., y O'Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18(1), 75-81.
- Bankova, V., Popova, S., y Bogdanov, M. (2005). Chemical composition of European propolis. *Expected and unexpected results*, 530-533.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Álvarez, A., y Rodríguez, E. (2004). Contenido de fenoles y flavonoides del propóleos argentino. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23, 369-372.
- Bodini, R. B., Sobral, P. J. A., Favaro-Trindade, C. S., y Carvalho, R. A. (2013). Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 104-110. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.013>
- Bradley, R. L. (2010). Moisture and total solids analysis. In *Food analysis* (pp. 85-104). Springer.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food science and technology*, 25-30.

- Bruschi, M. L., Cardoso, M. L. C., Lucchesi, M. B., y Gremião, M. P. D. (2003). Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 264(1), 45-55. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(03\)00386-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00386-7)
- Busch, V. M., Pereyra-Gonzalez, A., Šegatin, N., Santagapita, P. R., Poklar Ulrich, N., y Buera, M. P. (2017). Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. *LWT*, 75, 227-235. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.055>
- Cardona Serrate, F. (2019). Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones.
- Carreño, J., Martínez, A., Almela, L., y Fernández-López, J. A. (1995). Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. *Food Research International*, 28(4), 373-377. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0963-9969\(95\)00008-A](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)00008-A)
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., y Suddes, A. (2018). Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *Journal of Functional Foods*, 41, 1-8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.023>
- Chaillou, L. L., y Nazareno, M. A. (2009). Chemical variability in propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to the arboreal environment as the sources of resins [<https://doi.org/10.1002/jsfa.3542>]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6), 978-983. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.3542>
- Chopde, S., Datir, R., Deshmukh, G., Dhotre, A., y Patil, M. (2020). Nanoparticle formation by nanospray drying & its application in nanoencapsulation of food bioactive ingredients. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100085.
- Creus, E. G. (2004). Compuestos fenólicos. *Offarm*, 23(6), 80-84.

- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
- Cottica, S. M., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, J. V., y Britten, M. (2015). Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 609-614. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.045>
- Cottica, S. M., Sawaya, A. C. H., Eberlin, M. N., Franco, S. L., Zeoula, L. M., & Visentainer, J. V. (2011). Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, 929-935.
- Cuadros-Moreno, A., Pimentel, R. C., Martínez, E. S. M., & Fernandez, J. Y. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin-American Journal of Physics Education*, 8(4), 14.
- Cueto, D. (2001). *Los propóleos, su aplicación en la medicina humana*. Cuba: Puebla y Educación.
- da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., Balieiro, J. C. d. C., Pittia, P., y Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioproducts Processing*, 91(1), 28-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.006>
- Desai, KGH y Jin Park, H. (2005). Avances recientes en la microencapsulación de ingredientes alimentarios. *Tecnología de secado*, 23 (7), 1361-1394.
- de Vries, R., Stell, A., Mohammed, S., Hermanns, C., Martinez, A. H., Jetten, M., y Van Apeldoorn, A. (2020). Bioengineering, biomaterials, and β -cell

replacement therapy. In *Transplantation, Bioengineering, and Regeneration of the Endocrine Pancreas* (pp. 461-486). Elsevier.

Di Battista, C. A., Constenla, D., Ramírez-Rigo, M. V., & Piña, J. (2015). The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*, 286, 193-201. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.08.016>

Dimas, G. (2011). Estudio de la interacción de metales pesados en solución, en el proceso de biosorción por tres tipos de biomasa. Mexico: Universidad autónoma de Nuevo León.

Farré, R., Frassetto, I., y Sánchez, A. (2004). El própolis y la salud. *Ars Pharm* 45:23-43.

Ferreira, E., Guzman, D., Tello, J., y De Olivera, S. (2011). Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis mellifera* L. (hymenoptera: apidae) de la Región andina colombiana. UN- Universidad Nacional de Colombia. *Acta Biológica Colombia*, 175-184.

Ferreira, M. D. (1994). Physiological responses of strawberry to handling impacts and precooling methods.

Fioramonti, S. A. (2015). Aplicación de emulsiones multicapa para la encapsulación de aceites con alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados.

Flaquer-Florez, D. R., Delgado-Solarte, D. M., y Fernández-Quintero, A. (2016). secado por aspersión de soluciones modelo representativas de zumos de frutas. *Vitae*, 23, S387.

Fujimori, M., Kadota, K., Kato, K., Seto, Y., Onoue, S., Sato, H., . . . Tozuka, Y. (2016). Low hygroscopic spray-dried powders with trans-glycosylated food additives enhance the solubility and oral bioavailability of ipriflavone. *Food Chemistry*, 190, 1050-1055. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.081>

- Funari, C. S. D. (2005). Análise de própolis da Serra do Japi, determinação de sua origem botânica e avaliação de sua contribuição em processos de cicatrização. <https://doi.org/10.11606/d.9.2005.tde-08122008-143118>
- García-Gutiérrez, C., González-Maldonado, M. B., Ochoa-Martínez, L. A., y Medrano-Roldán, H. (2004). Microencapsulación de jugo de cebada verde mediante secado por aspersion. *CYTA-Journal of Food*, 4(4), 262-266.
- García Martínez, E. M., & Fernández Segovia, I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación.
- Georgiev, M., Alipieva, K., Pashova, S., Denev, P., Angelova, M., Kerns, G., & Bley, T. (2010). Antioxidant activity of devil's claw cell biomass and its active constituents. *Food Chemistry*, 121(4), 967-972. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.028>
- Gibbs, B. F., Kermasha, Selim., Alli, Inteas y Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3), 213-224.
- Gómez-Cruz, N. I., y Jiménez-Munguía, M. T. (2014). Métodos de secado de emulsiones alimentarias. *Temas selectos de ingeniería de Alimentos*, 8(2), 23-33.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7), 330-347. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.005>
- Grotewold, E. (2006). *The science of flavonoids*. Springer.
- Harborne, J. B. (1989). General procedures and measurement of total phenolics. *Methods in plant biochemistry*, 1, 1-28.
- Huayhua, R. K. M., y Nina, H. S. G. (2009). Acción antimicrobiana del própolis de *Apis Mellifera L.* y de *Salanum mammosum L.* (teta de vaca) contra

- microorganismos de la cavidad oral (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus Mitis*). *Ciencia y Desarrollo*, 10, 11-22.
- Ipohorski, M. (2011). Una Mirada al Microscopio Electrónico de Barrido. Buenos Aires: Instituto de Energía y Desarrollo Sustentable.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., y Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Krell, R. (1996). Value-added products from bee keeping. FAO Agricultural Services Bulletin, 124.
- Kuhnau, J. (1976). Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *World review of nutrition and dietetics*.
- Lacalle, A. (2008). Propoleo, el "antibiótico" natural de la colmena. *Sustrai: revista agropesquera* (85), 56-61.
- Lana, M. M., Tijskens, L. M. M., y van Kooten, O. (2006). Effects of storage temperature and stage of ripening on RGB colour aspects of fresh-cut tomato pericarp using video image analysis. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 871-879. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.015>
- Lee, W. J., Tan, C. P., Sulaiman, R., Smith Jr, R. L., y Chong, G. H. (2018). Microencapsulation of red palm oil as an oil-in-water emulsion with supercritical carbon dioxide solution-enhanced dispersion. *Journal of Food Engineering*, 222, 100-109.
- Li, X., Anton, N., Arpagaus, C., Belleteix, F., y Vandamme, T. F. (2010). Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano Spray Dryer B-90. *Journal of Controlled Release*, 147(2), 304-310. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.07.113>

- López, J., y Ubillús, M. (2004). Estandarización del propóleo de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú) como materia prima para su utilización a nivel industrial.
- López, R. E. (2015). Estudio de la actividad antimicrobiana y antioxidante de propóleos de distintos orígenes. *Universitat Politècnica de València. Departamento de Biotecnología*.
- Lozano Berna, M. (2009). Obtención de mirencapsulados funcionales de zumo de "Opuntia stricta" mediante secado por atomización.
- Maldonado, L., Alvarez, E., y Rodríguez, E. (2013). Propóleos, pasado y presente. *Acta farmacéutica bonaerense*, 369-372.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., y Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., y Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Mendoza, F., Dejmek, P., y Aguilera, J. M. (2006). Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 41(3), 285-295. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.04.004>
- Mercado-Mercado, G., Rosa Carrillo, L. D. L., Wall-Medrano, A., López Díaz, J. A., y Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición hospitalaria*, 28(1), 36-46.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- McNamee, B. F., O'Riorda, E. D., y O'Sullivan, M. (2001). Effect of Partial Replacement of Gum Arabic with Carbohydrates on Its Microencapsulation

- Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3385-3388. <https://doi.org/10.1021/jf001003y>
- MINAGRI. (2015). *Plan Nacional de Desarrollo Apícola*. Lima.
- MINCETUR. (2008). Mejora de las técnicas y procesos en la producción, cosecha y acopio de miel de abeja y productos del bosque seco Lambayeque.
- Paladino, S. (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). *Tesis de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*.
- Pant, K., Thakur, M., Chopra, H. K., y Nanda, V. (2022). Encapsulated bee propolis powder: Drying process optimization and physicochemical characterization. *LWT*, 155, 112956. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112956>
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., y González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 64-70. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.11.003>
- Pathare, P. B., Opara, U. L., y Al-Said, F. A.-J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and bioprocess technology*, 6(1), 36-60.
- Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1), 0-0.
- Pinzón Ruiz, M. P. (2012). Nanotecnología en los alimentos.
- Poon, W. C. K., & Haw, M. D. (1997). Mesoscopic structure formation in colloidal aggregation and gelation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 73, 71-126. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(97\)90003-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-8686(97)90003-8)
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A. G., . . . Bogdanov, S. (2004). Validated methods for the

- quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15(4), 235-240.
- Quintanar, EMA y Calderón, SJV (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, 28 (3), 89-101.
- Randall, R. C., Phillips, G. O., y Williams, P. A. (1988). The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 2(2), 131-140. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(88\)80011-0](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(88)80011-0)
- Rajibul, AL, Ismail, S., Nayan, R. y Naznin, AB (2010). Actividad antioxidante del propóleo indio y sus constituyentes químicos. *Química de los alimentos*, 122 (1), 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.068>
- Rees, O. J. (2010). *Fourier transform infrared spectroscopy: developments, techniques, and applications*. Nova Science Publishers.
- Rivas Navia, D. M., Dueñas Rivadeneira, A. A., y Rodríguez Díaz, J. M. (2020). Metabolitos Secundarios y actividad antioxidante del tomatillo silvestre (*Solanum pimpinellifolium* L.). *Revista Técnica De La Facultad De Ingeniería. Universidad Del Zulia*, 43(2), 26-32
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.
- Ross, J. A., y Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, 22, 19.
- Sandoval, V., Cu, T., Peraza, G., y Acereto, P. (2016). Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. *Alimentos Funcionales de Hoy*, 181- 218. doi:<https://doi.org/10.3926/oms.358>
- Santana, J. K. A., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L., y Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of

- brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*, 101, 129-138. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.066>
- Santana, J. K. A., Denadai, M., Santana, G. R. A., da Cunha Nascimento, C., Ferreira, P. B., Jesus, M. S., & Narain, N. (2018). Desarrollo y caracterización de microcápsulas que contienen polvo atomizado obtenido a partir de propóleo pardo, verde y rojo de Brasil. *Food Research International*, 109, 278-287. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.048>
- Sharifi, A., Niakousari, M., Maskooki, A., y Mortazavi, S. A. (2015). Effect of spray drying conditions on the physicochemical properties of barberry (*Berberis vulgaris*) extract powder. *International Food Research Journal*, 22(6).
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Soleimanifard, M., Feizy, J. y Maestrelli, F. (2021). Nanoencapsulación de extracto de propóleo por complejos de caseinato de sodio-maltodextrina. *Procesamiento de alimentos y bioproductos*, 128, 177-185. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.05.005>
- Soobrattee, MA, Neergheen, VS, Luximon-Ramma, A., Aruoma, OI y Baborun, T. (2005). Fenólicos como potenciales agentes terapéuticos antioxidantes: Mecanismo y acciones. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 579 (1), 200-213. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.03.023>
- Starke-Reed, P. (2003). Antioxidantes: nutrición del instituto nacional de estudios sobre el envejecimiento. *Maryland, Estados Unidos*.
- Suárez Ibujés, M. O. (2011). Coeficiente de correlación de Karl Pearson.

- Šturm, L., Osojnik Črnivec, I. G., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., . . . Poklar Ulrich, N. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioproducts Processing*, 116, 196-211. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.05.008>
- Thevenet, F. (1988). Acacia gums: Stabilizers for flavor encapsulation. In. ACS Publications.
- Tsimidou, M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian Journal of Food Science*, 10(IKEEART-2022-259), 99-116.
- Vicente, R. M. (2016). Análisis virológico y epidemiológico del síndrome de despoblamiento de las colmenas en España: estudio de causas y consecuencias.
- Vilgis, T. A. (2015). Soft matter food physics—the physics of food and cooking. *Reports on Progress in Physics*, 78(12), 124602.
- Walters, R. H., Bhatnagar, B., Tchessalov, S., Izutsu, K.-I., Tsumoto, K., y Ohtake, S. (2014). Next generation drying technologies for pharmaceutical applications. *Journal of pharmaceutical sciences*, 103(9), 2673-2695.
- Yada, R. Y., Buck, N., Canady, R., DeMerlis, C., Duncan, T., Janer, G., . . . Noonan, G. (2014). Engineered nanoscale food ingredients: evaluation of current knowledge on material characteristics relevant to uptake from the gastrointestinal tract. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 730-744.

ANEXOS

Anexo 1. ANOVA y prueba de rangos múltiples para flavonoides

ANOVA para flavonoides por tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.383022	2	0.191511	125.81	0.0000
Intra grupos	0.00913333	6	0.00152222		
Total (Corr.)	0.392156	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para flavonoides por tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	1.80667	A
2	3	2.22667	B
3	3	2.26	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0.42	0.0779494
1 - 3	*	-0.453333	0.0779494
2 - 3		-0.0333333	0.0779494

* indica una diferencia significativa.

Anexo 2. ANOVA y prueba de rangos múltiples para compuestos fenólicos

ANOVA para compuestos fenólicos por tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.9856	2	1.9928	3739.62	0.0000
Intra grupos	0.00319733	6	0.000532889		
Total (Corr.)	3.9888	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para compuestos fenólicos por tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	3	1.76033	B
1	3	2.703	A
3	3	3.38333	C

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0.942667	0.0461203
1 - 3	*	-0.680333	0.0461203
2 - 3	*	-1.623	0.0461203

* indica una diferencia significativa.

Anexo 3. ANOVA y prueba de rangos múltiples para capacidad antioxidante (DPPH)

ANOVA para Capacidad antioxidante por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7.23807	2	3.61903	33.28	0.0006
Intra grupos	0.652533	6	0.108756		
Total (Corr.)	7.8906	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para capacidad antioxidante por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	3	10.3567	B
1	3	11.46	A
3	3	12.5533	C

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	1.10333	0.65887
1 - 3	*	-1.09333	0.65887
2 - 3	*	-2.19667	0.65887

* indica una diferencia significativa.

Anexo 4. ANOVA y prueba de rangos múltiples para capacidad antioxidante (ABTS)

ANOVA para capacidad antioxidante por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.132289	2	0.0661444	10.26	0.0116
Intra grupos	0.0386667	6	0.00644444		
Total (Corr.)	0.170956	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad antioxidante por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	2.03333	A
2	3	2.17	AB
3	3	2.33	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.136667	0.160386
1 - 3	*	-0.296667	0.160386
2 - 3		-0.16	0.160386

* indica una diferencia significativa.

Anexo 5. ANOVA y prueba de rangos múltiples para % rendimiento

ANOVA para % rendimiento por tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	103.441	2	51.7205	20.73	0.0020
Intra grupos	14.9701	6	2.49501		
Total (Corr.)	118.411	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para % rendimiento por tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	3	61.2699	B
2	3	63.8676	B
1	3	69.3995	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	5.5319	3.1558
1 - 3	*	8.12963	3.1558
2 - 3		2.59773	3.1558

* indica una diferencia significativa.

Anexo 6. ANOVA y pruebas de rangos múltiples para % de humedad

ANOVA para %humedad por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8.79293	2	4.39646	22.34	0.0017
Intra grupos	1.18067	6	0.196778		
Total (Corr.)	9.97359	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para %humedad por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	3	3.83913	C
3	3	4.93123	B
1	3	6.25653	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	2.4174	0.886262
1 - 3	*	1.3253	0.886262
2 - 3	*	-1.0921	0.886262

* indica una diferencia significativa.

Anexo 7. ANOVA y pruebas de rangos múltiples para actividad de agua

ANOVA para actividad de agua por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00513489	2	0.00256744	94.31	0.0000
Intra grupos	0.000163333	6	0.0000272222		
Total (Corr.)	0.00529822	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para actividad de agua por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	3	0.243333	C
3	3	0.279	B
1	3	0.301333	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0.058	0.010424
1 - 3	*	0.0223333	0.010424
2 - 3	*	-0.0356667	0.010424

* indica una diferencia significativa.

Anexo 8. ANOVA y pruebas de rangos múltiples para color

ANOVA para Color (L) por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.969867	2	0.484933	779.36	0.0000
Intra grupos	0.00373333	6	0.000622222		
Total (Corr.)	0.9736	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para color (L) por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	91.4833	A
2	3	91.6567	B
3	3	92.25	C

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0.173333	0.0498364
1 - 3	*	-0.766667	0.0498364
2 - 3	*	-0.593333	0.0498364

* indica una diferencia significativa.

ANOVA para Color (a*) por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0131556	2	0.00657778	118.40	0.0000
Intra grupos	0.000333333	6	0.0000555556		
Total (Corr.)	0.0134889	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Color (a*) por tratamientos

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2	3	-0.71	C
3	3	-0.656667	B
1	3	-0.616667	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0.0933333	0.0148915
1 - 3	*	0.04	0.0148915
2 - 3	*	-0.0533333	0.0148915

* indica una diferencia significativa.

ANOVA para Color (b*) por tratamientos

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.43502	2	1.71751	45.56	0.0002
Intra grupos	0.2262	6	0.0377		
Total (Corr.)	3.66122	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Color (b*) por tratamientos

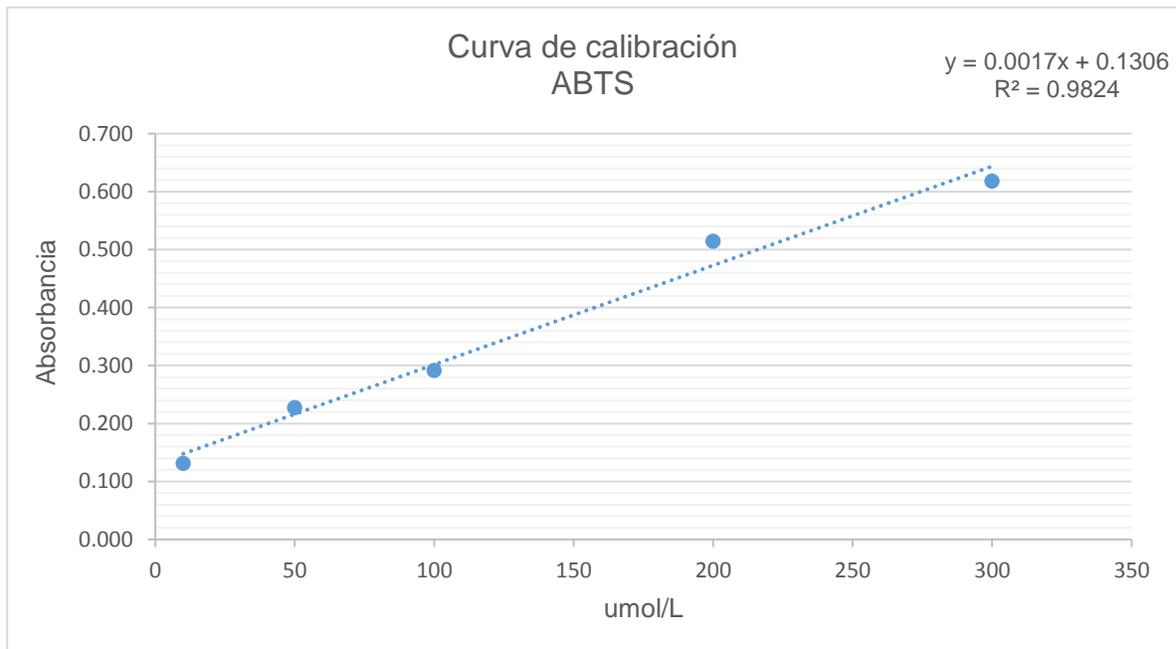
Método: 95.0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	3	5.97667	C
2	3	6.44333	B
1	3	7.45667	A

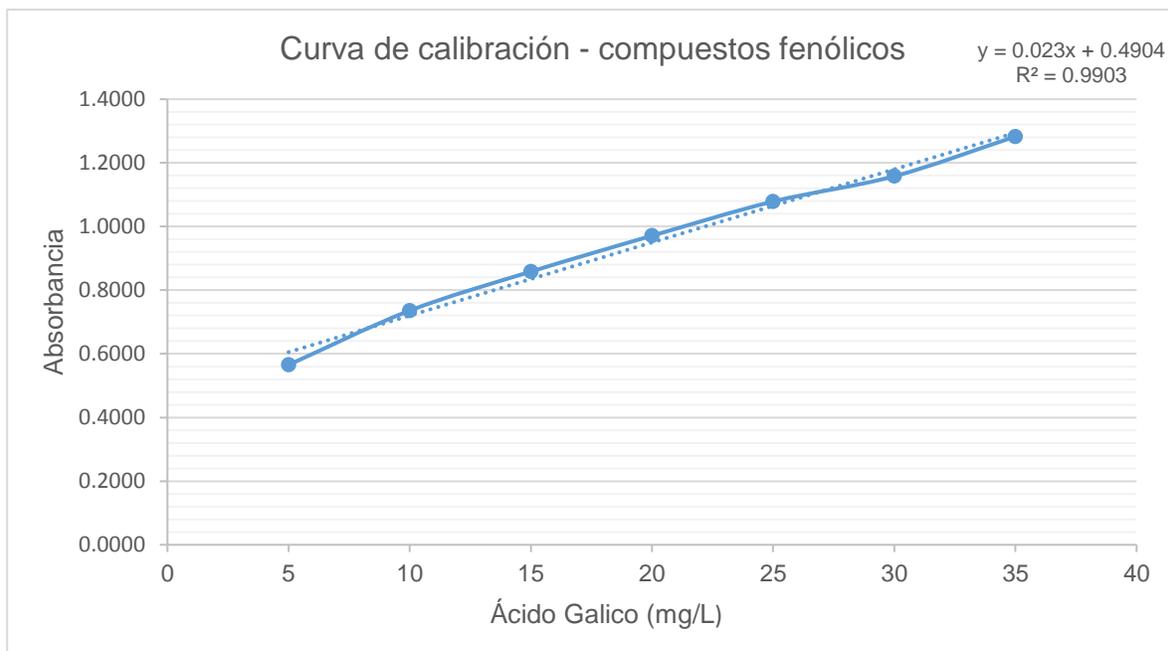
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	1.01333	0.387922
1 - 3	*	1.48	0.387922
2 - 3	*	0.466667	0.387922

* indica una diferencia significativa.

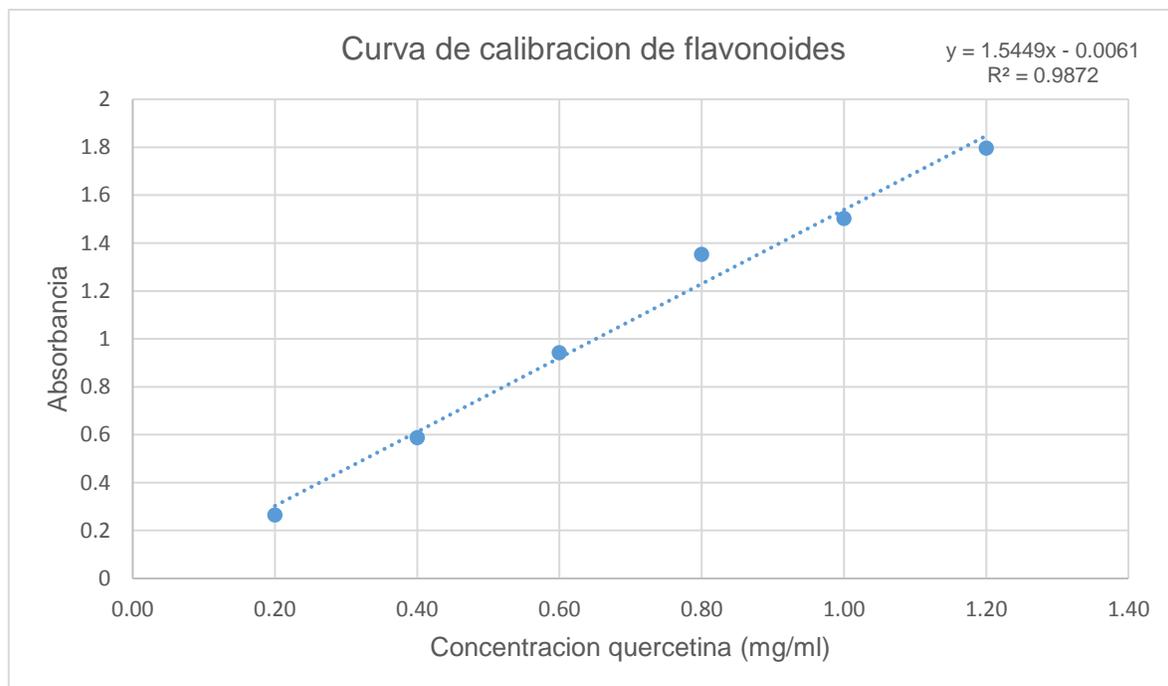
Anexo 9. Curva de calibración ABTS



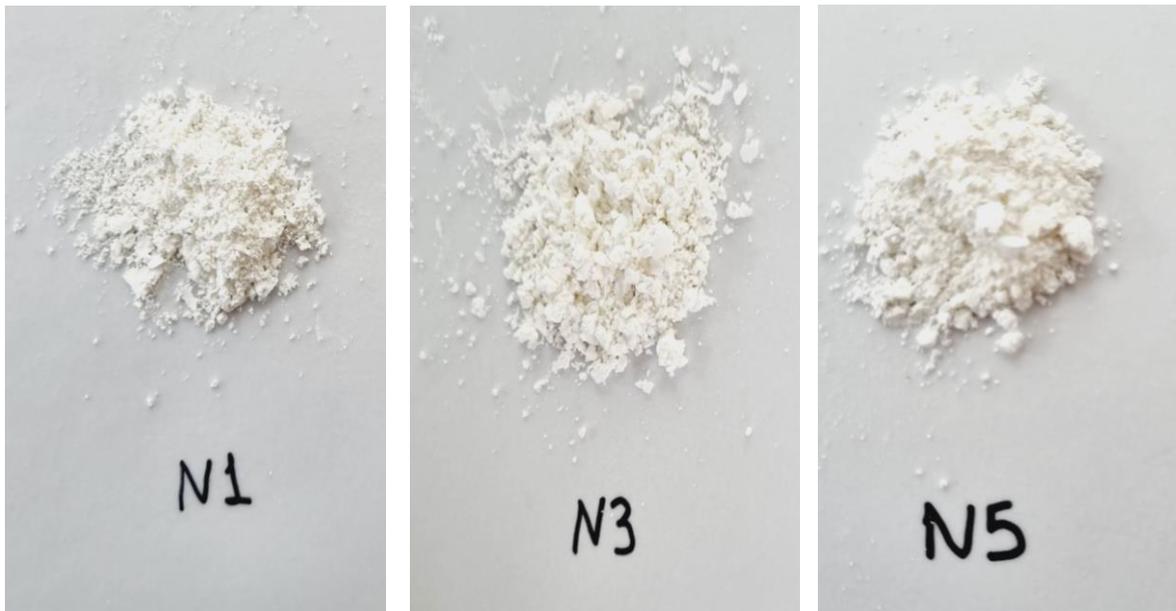
Anexo 10. Curva de calibración compuestos fenólicos



Anexo 11. Curva de calibración flavonoides



Anexo 12. Nanoencapsulados de propóleo



Dónde: N1 Huinchos, N3 Chaccamarca y N5 de Cuncatata

Anexo 13. Visita a centros apícolas y recolección



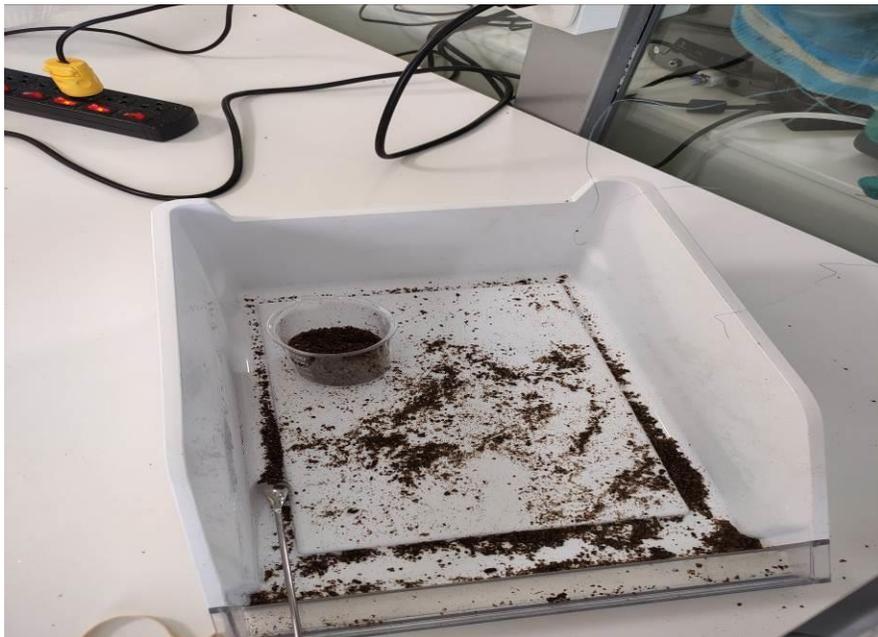


Anexo 14. Acondicionamiento de propóleo





Anexo 15. Propóleo en bruto



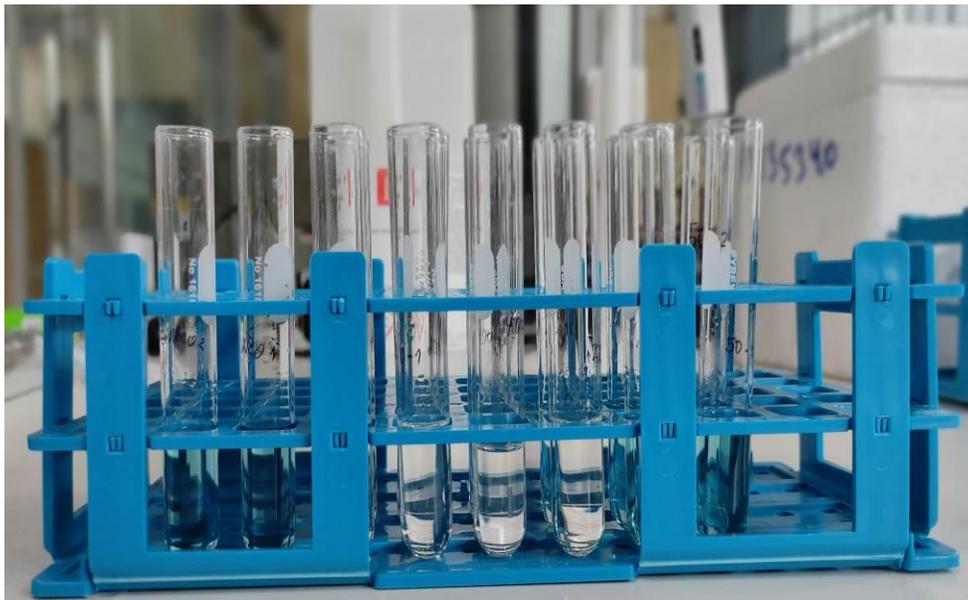
Anexo 16. Inmersión en medio etanólico al 80%



Anexo 17. Capacidad antioxidante por ABTS de muestras



Anexo 18. Capacidad antioxidante por ABTS de trolox



Anexo 19. Capacidad antioxidante por ABTS (comparación de propóleo y miel)



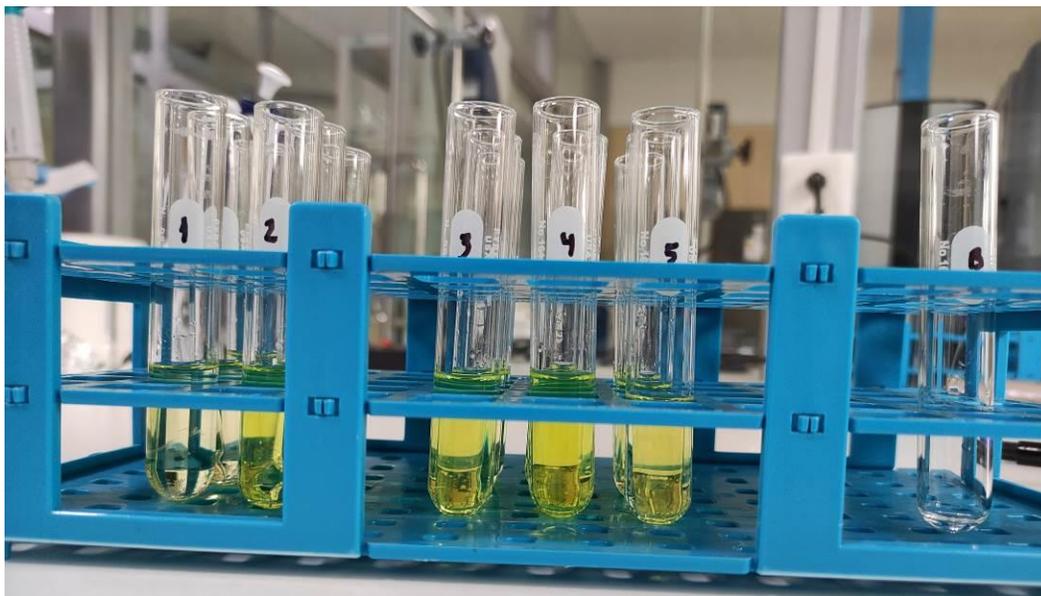
Anexo 20. Lecturas espectrofotómetro



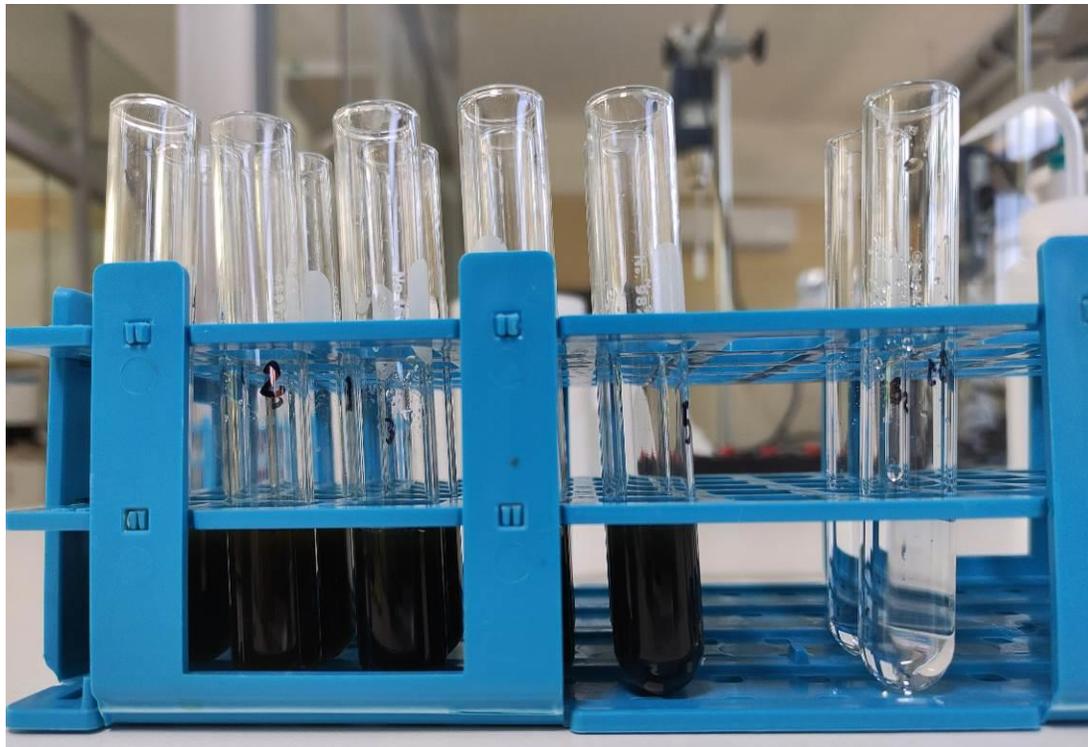
Anexo 21. Capacidad antioxidante DPPH



Anexo 22. Cuantificación Flavonoides



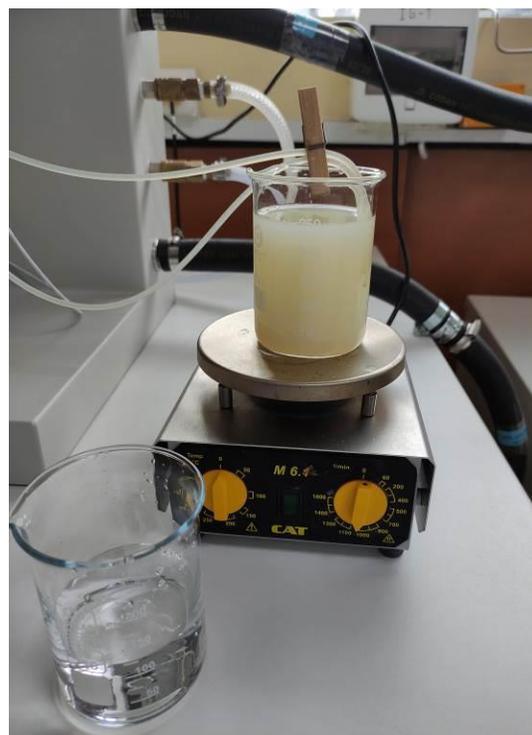
Anexo 23. Cuantificación compuestos fenólicos



Anexo 24. Lecturas mediante espectrofotómetro



Anexo 25. Nanoencapsulamiento de propóleo



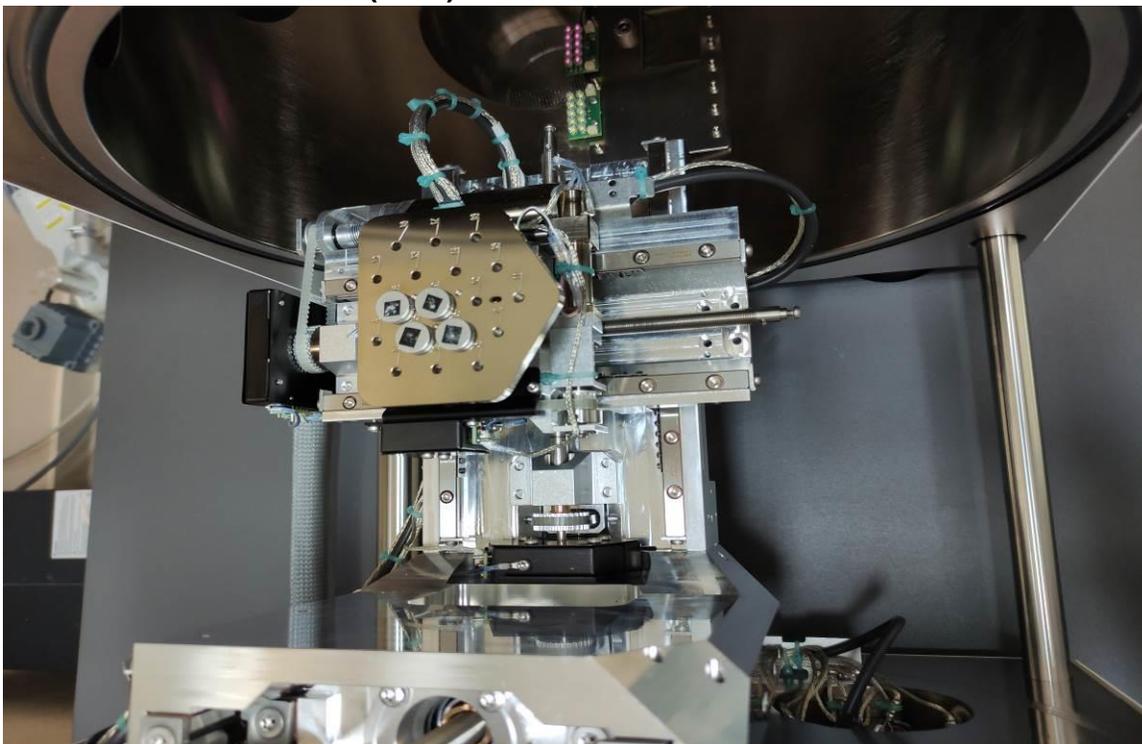
Anexo 26. Preparación muestra (DLS) para ultrasonido



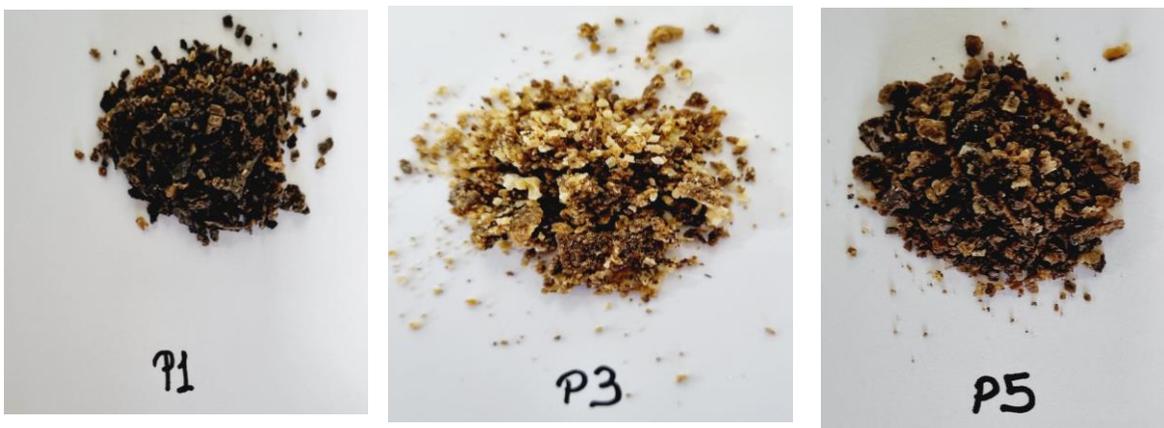
Anexo 27. Ultrasonido para DLS



Anexo 28. Muestras en (SEM)



Anexo 29. Propóleo crudo



Donde P1: propóleo de Huinchos, P3: propóleo de Chaccamarca y P5: propóleo de Cuncataca

Anexo 30. Propóleo purificado



Donde N1: propóleo purificado de Huinchos, N3: Propóleo purificado de Chaccamarca y N5: Propóleo purificado de Cuncataca

Anexo 31. Cálculos para curva de calibración de capacidad antioxidante

Reunión 29 de abril, 2021. Capacidad Antiox-ABTS

* ABTS (7 ml)
 $m = 96,225 \text{ mg ABTS}$
 $V = 25 \text{ ml H}_2\text{O}$

* $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (2,45 ml)
 $m = 16,5577 \text{ mg}$
 $V = 25 \text{ ml}$

25 ml ABTS + $250 \mu\text{L K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

- Dejar reaccionar en Oscuridad $\pm 25^\circ\text{C}$
 - Leer abs a $\lambda = 34 \text{ nm} = 0,7 \pm 0,1$
 Si es q' es $>$ diluir con etanol al 96%

Blanco: etanol 96%
 Blanco 2: 0,3 etanol + 2,7 ml ABTS⁺

TROLOX

- Solución madre: $1000 \mu\text{mol/L}$
 $m = 0,01251 \text{ g}$
 $V = 50 \text{ ml}$

- Soluciones diluidas:

Concentración $\mu\text{mol/L}$	Vsol madre (ml)	Vetanol (ml)
50	0,5	9,5
100	1	9
200	2	8
400	4	6
600	6	4
800	8	2

* $0,3 \text{ mL emad} + 2,7 \text{ ml ABTS}^+$

Anexo 32. Cálculos para curva de calibración de flavonoides

Reunión 27 de abril 2014

CUANTIFICACION DE FLAVONOIDES

5% $AlCl_3$ - 50 ml etanol = 2% $AlCl_3$ en 70%
 ETANOL AL 70% Y METANOL AL 80%

$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $100 \times V_1 = 70 \times 50 \text{ ml}$
 $V_1 = 35 \text{ ml}$

$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$
 $100 \times V_1 = 80 \times 100 \text{ ml}$
 $V_1 = 80 \text{ ml}$

PREPARACION DE QUERCETINA

100 mg / 10 ml

$C = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ ml}}$ → Metanol
 $C = 10 \text{ mg/ml}$

Concentración	V. sol. madre	V. sol. (muestras)
0.1 mg/ml	0.1 ml	4.9
0.2 mg/ml	0.2 ml	9.8
0.4 mg/ml	0.4 ml	9.6
0.8 mg/ml	0.8 ml	9.2
1.0 mg/ml	1 ml	9.0
2.0 mg/ml	2 ml	8.0

90 μ L [] querce
 4.9 ml Metanol 80%
 0.1% $AlCl_3$ 5%
 2.9 ml Metanol 80%

Reposar x 10'
 $\lambda = 425 \text{ nm}$

Anexo 33. Matriz de consistencia

Formulación de problema	Objetivos	Hipótesis	Variabes	Instrumento de medición
PG: ¿Cómo será el comportamiento de la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?	OG: Evaluar el comportamiento de la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.	HG: Los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.		
PE 1: ¿Cómo es el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?	OE 1: Determinar el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.	HE 1: El contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.	Flavonoides Compuestos fenólicos Capacidad antioxidante	Espectrofotómetro UV-vis Espectrofotómetro UV-vis Espectrofotómetro UV-vis
PE 2: ¿Cómo es el rendimiento, humedad, actividad de agua y color en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?	OE 2: Determinar el rendimiento, humedad, actividad de agua y color en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina.	HE 2: El rendimiento, humedad, actividad de agua y color de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina difieren de la zona de recolección.	Rendimiento Humedad Actividad de agua Color	Indirecto Indirecto Determinador de Aw - Rotronic Colorímetro

Formulación de problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Instrumento de medición
PE 3: ¿Cómo son los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina?	OE 3: Determinar los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula en la nanoencapsulación de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina	HE 3: Los grupos funcionales, microfotografías estructurales y tamaño de partícula de los nanoencapsulados de propóleo purificado en matrices de goma arábica y maltodextrina provenientes de Chaccamarca presentan diversos grupos funcionales, adecuada morfología y tamaño de partícula a nivel nanométrico.	Grupos funcionales Microfotografías estructurales Tamaño de partícula	FTIR SEM DLS

Anexo 34. Valores para correlación de Pearson

Valor	Significado
-1	Correlación negativa grande y perfecta
-0,9 a -0,99	Correlación negativa muy alta
-0,7 a -0,89	Correlación negativa alta
-0,4 a -0,69	Correlación negativa moderada
-0,2 a -0,39	Correlación negativa baja
-0,01 a -0,19	Correlación negativa muy baja
0	Correlación nula
0,01 a 0,19	Correlación positiva muy baja
0,2 a 0,39	Correlación positiva baja
0,4 a 0,69	Correlación positiva moderada
0,7 a 0,89	Correlación positiva alta
0,9 a 0,99	Correlación positiva muy alta
1	Correlación positiva grande y perfecta