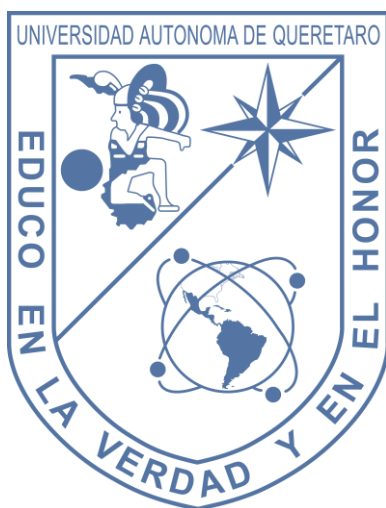




Universidad autónoma de Querétaro

Autor:

Luis Marcelo Buendía Gómez

Año:

2017

Nombre de la tesis:

“Encapsulación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos
procedentes del chile pimienta en sílice mesoporosa SBA 15”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Centro Universitario

Campus Aeropuerto Querétaro, Qro.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Ingeniería en Nanotecnología

Opción de Titulación

Tesis

“Encapsulación de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos
procedentes del chile pimienta en sílice mesoporosa SBA 15”

Presenta:

C. Luis Marcelo Buendía Gómez

Directora:

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez

Co-director:

Dr. Rufino Nava Mendoza

Sinodal:

Dra. Sandra Neli Jiménez García

Sinodal:

Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo

Sinodal:

Dra. María Ángeles Cuan Hernández

RESUMEN

En la actualidad, hay un interés creciente por las propiedades y las posibles aplicaciones biológicas de varios metabolitos secundarios dentro de la industria biomédica, cosmética, farmacéutica y alimenticia principalmente. Los compuestos fenólicos, taninos y flavonoides poseen capacidad antioxidante que ha mostrado poseer varias propiedades benéficas hacia la salud humana, incluyendo actividad: anticancerígena, antiinflamatorio, antiviral, antibacterial, propiedades antienvjecimiento entre otras.

Estas moléculas, las cuales están presentes en los frutas y verduras principalmente, se encuentran en la cascara, tallo, semilla y pulpa las cuales constituyen una gran parte fundamental de la composición molecular de las frutas y verduras. Debido a esta riqueza molecular y a su interés, se han investigando métodos efectivos para su cuantificación y protección (encapsulación), para así evitar su deterioro inoportuno y poder conservarlas mucho más tiempo para posibles aplicaciones farmacéuticas y biomédicas.

El diseño y el uso de nanopartículas acarreadoras han estado en discusión debido a sus características y propiedades. El principal interés de estas nanopartículas es debido a que le confieren protección, acarreamiento y liberación a las biomoléculas. Y gracias a estas nanopartículas, las biomoléculas están protegidas de factores que las pudieran inhibir, tales como: la temperatura, la variación del pH, luz, posible indeseada interacción con otras moléculas, entre otras.

Estas nanopartículas mesoporosas, constituidas por oxido de silicio o sílice, llamadas SBA 15 mesoporosas, presentan un diámetro de poro capaz de atrapar, encapsular y retener dentro de si, metabolitos secundarios de interés.

Estas nanopartículas fueron analizadas vía difracción de rayos x, mediante isothermas de adsorción-desorción de N₂ a 77 K, análisis de espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier, análisis termogravimétricos, espectroscopia de transmisión y espectroscopia barrido para determinar que efectivamente se habrían sintetizado nanopartículas mesoporosas SBA 15. Para la introducción de las biomoléculas, se utilizaron dos tipos de agitaciones: mecánica y ultrasónica. Lo anterior, para establecer que método era mejor.

Se cuantificaron los compuestos fenólicos, taninos condensados y flavonoides, así como la capacidad antioxidante de la muestra de pimienta antes y después de ser encapsulada. Adicionalmente y como prueba de inclusión de las biomoléculas en el complejo, se realizó espectroscopia infrarrojo y el análisis termogravimétricos.

El objetivo de la presente tesis fue enlazar metabolitos secundarios procedentes de Chile pimienta sobre la superficie de nanopartículas de sílice SBA 15, evaluando sus propiedades biológicas del complejo desarrollado.

Los resultados indicaron que se logró la inclusión de las biomoléculas en las nanopartículas de sílice mesoporosas SBA 15. Dicha información se corroboró con los análisis biológico y la espectroscopia infrarrojo de los blancos, comparados con sus blancos, otorgando resultados satisfactorios en cuanto a estructura del complejo.

Y finalmente para concluir, factores como: el tipo de solvente y el tipo de proceso de agitación influyeron bastante en el rendimiento y encapsulación de los mismos, dando así resultados variantes en cada proceso.

Palabras clave: metabolitos secundarios, nanotecnología y nanomedicina, química orgánica, nanopartículas de sílice mesoporosas SBA, microscopia electrónica de barrido (SEM), Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM). Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, análisis termogravimétrico, difracción de rayos X (XRD), análisis termogravimétricos y actividad antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana Angelica Feregrino Pérez y al Dr. Rufino Nava Mendoza por brindarme y otorgarme la oportunidad de realizar mi tesis con ellos, así como su apoyo incondicional y seguimiento de la misma. También les estoy muy agradecido por apoyarme con todo el material, las instalaciones y sus palabras que me hicieron más fuerte.

También, le estoy muy agradecido a la máxima casa de estudios, la Universidad Autónoma de Querétaro por darme la oportunidad y creer en mí.

Pero, principalmente le agradezco a dios, mi madre y hermanos por estar siempre a mi lado apoyándome en todo aspecto.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	3
AGRADECIMIENTOS	5
Índice de figuras	10
Índice de tablas	11
Índice de graficas	12
I.INTRODUCCIÓN	13
II. JUSTIFICACIÓN	14
III. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	15
IV. PLANTEAMIENTO TEÓRICO	16
V. OBJETIVOS	16
V 1 Objetivos generales	16
V 2 Objetivos Específicos	16
VI. ANTECEDENTES	17
VI.1 Compuestos con actividad biológica	18
VI.1.1 Metabolitos secundarios	18
VI.1.1.1 Compuestos fenólicos	20
VI.1.1.1.1 Taninos	22
VI.1.1.1.2 Flavonoides	23
VI.1.2 Factores que pueden afectar la producción de metabolitos secundarios	24
VI.1.3 Actividad antioxidante	26
VI.1.3.1 DPPH	27
VI.1.3.2 ABTS	28
VI.1.4 Extracción de biomoléculas	29
VI.1.5 Protección de metabolitos secundarios	30
VI.1.6 Encapsulación	33
VI.1.6.1 Nanoencapsulación	33
VI.1.6.2 Microencapsulación	35

VI.1.7 Materiales para encapsulación.....	36
VI.1.7.1 Materiales Mesoporosos.....	36
VI.1.7.1.1 El material mesoporoso SBA 15.....	36
VI.1.8 El Proceso Sol-Gel.....	38
VI.1.8.1 Hidrólisis y condensación de agua y alcohol.....	40
VI.1.8.1.1 Reacción de condensación de agua mediante la reacción entre dos grupos hidroxilos de los hidróxidos de silicio.....	40
VI.1.8.1.2 Reacción de condensación de alcohol mediante la reacción de un grupo hidroxilo (Si-OH) con un grupo alcóxido (Si-OC ₂ H ₅).....	41
VI.1.8.2 Gelificación.....	41
VI.1.8.4 Secado.....	42
VII. METODOLOGÍA.....	42
VII.1 Materiales.....	42
VII.1.1 Materiales inorgánicos.....	42
VII.1.1.1 Síntesis de la Sílice Hexagonal Mesoporosa SBA 15.....	42
VII.1.1.2 Funcionalización de la SBA 15.....	44
VII.1.2 Material biológico.....	47
VII.1.2.1 Métodos.....	47
VII.1.2.1.1 Extracción y cuantificación de compuestos Bioactivos.....	47
VII.1.2.1.2 Determinación de Taninos Condensados.....	47
VII.1.2.1.3 Determinación de flavonoides.....	48
VII.1.2.1.4 Determinación de fenoles Totales.....	48
VII.1.2.1.5 Determinación de Capacidad Antioxidante DPPH.....	50
VII.1.2.1.6 Preparación de la Muestra.....	50
VII.1.2.1.7 Calculo de la Capacidad Antioxidante.....	51
VII.1.2.1.8 Determinación de capacidad antioxidante ABTS.....	52
VII.1.2.1.9 Encapsulación de los compuestos fenólicos.....	52
VII.1.3. Caracterización física de los materiales.....	53
VII.1.3.1 Isotermas de adsorción-desorción de N ₂ a 77 K.....	53

VII.1.3.2 Difracción de Rayos-X (DRX).....	53
VII.1.3.3 Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM)...	53
VII.1.3.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	54
VII.1.3.5 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier.....	54
VII.1.3.6 Análisis termogavimétrico.....	54
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	54
VIII.1 Caracterización física de la sílice mesoporosa SBA 15.....	55
VIII.1.1 Isotermas de adsorción-desorción de N ₂ a 77 K.....	55
VIII.1.2 Difracción de Rayos-X (DRX).....	59
VIII.1.3 Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM)....	61
VIII.1.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	62
VIII.2 Caracterización biológica.....	63
VIII.2.1 Caracterización de encapsulación y pruebas antioxidantes.....	63
VIII.2.1.1 Agitación magnética 4 horas.....	66
VIII.2.1.2 Agitación magnética 18 horas.....	68
VIII.2.1.3 Agitación ultrasónica.....	71
VIII.3 Caracterización cualitativa de los sistemas obtenidos.....	78
VIII.3.1 Caracterización por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	78
VIII.3.1.1 Caracterización de los blancos.....	78
VIII.3.1.2 Caracterización de la muestra deshidratada.....	81
VIII.3.1.3 caracterización de los productos resultantes en la agitación magnética 18 horas.....	85
VIII.3.1.4 caracterización de los productos resultantes en la agitación magnética 4 horas.....	89
VIII.3.1.5 caracterización de los productos resultantes en la agitación ultrasónica.....	90
VIII.3.2 Caracterización por analisis termogravimetrico (TGA).....	92
VIII.3.2.1 SBA 15 sin funcionalizar blanco.....	95

VIII.3.2.2 SBA 15 funcionalizada con grupos amino –NH ₂ blanco	95
VIII.3.2.3 Muestra biológica deshidrata blanco	96
VIII.3.2.4 Muestra del proceso de agitación magnetica (agitación 4 horas)	97
VIII.3.2.5 Muestra del proceso de agitación ultrasónica	98
IX.CONCLUSIONES	99
X, REFERENCIAS	100

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Algunos ejemplos de las estructuras moleculares de los diferentes tipos de flavonoides encontrados en las plantas: Isoflavonoides (Dalzeina, Daldzina, Gilteina, glicitina), Flavanoles (Epigalocatequina, Epicatequina, Epicatequina Galate, Epigalocatequina Galate), Flavones (Apigenian, Luteorina), Flavonoles (Kaempferol, Quercetina, Miricetina), Flavonoles (Naringina, Naringenina, Taxifolina) y Antocianidinas (Cainidinas, Malvidina) (Martins y col., 2011).....	21
Figura 2. Algunos factores bióticos y abióticos que influyen en la crecimiento de la planta producción de metabolitos secundarios (Sepúlveda y col., 2003).....	25
Figura 3. Reacción entre el radical libre DPPH con el antioxidante donde AH es el donador de la molécula y A es el radical libre producido. (Khalid y col. 2013).....	27
Figura 4. ABTS y su producto al contacto con un electron, ABTS•+ (Changha Lee y Jeyong Yoon, 2008).....	29
Figura 5. Nanotecnología en liberación de nutraceuticos: larga vida útil del producto, mejoramiento en la biodisponibilidad, protección contra la humedad, liberación etiquetada inteligente, reduce los efectos tóxicos, permite una liberación sostenida, influencia en textura y sabor, mejora la solubilidad (Arora y col., 2016).....	31
Figura 6. Tipos de sistemas estructurales nanometricos usados para la encapsulación y liberación de activos. (a) nanoacarreador poliméricos: nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, dendrimeros, hidrogeles poliméricos, conjugados de polímero-activo. (b) nanoacarreadores basados en lípidos: liposomas, nanopartículas solidas lipidias, micelas fosfolipidas, nanoemulsiones, sistemas de liberación porolongada autoemulsificantes. (c) nanoacarreadores inorgánicos: puntos cuánticos, nanopartículas de oro, nanopartículas magnéticas, nanopartículas de silicio, nanotubos de carbono Arora y col., (2016).....	34
Figura 7. Mecanismo de síntesis de la sílice mesoporosa SBA-15 (Van der Voort y col., 2002; Flodstrom y Alfredsson, 2003; Lachheb y col., 2011).....	38
Figura 8. Esquema del procedimiento de preparación de la SBA 15.....	43
Figura 9. Esquema del procedimiento de funcionalización de la SBA 15 con grupos amino.....	45
Figura 10. Pasos para la síntesis y funcionalización de la SBA 15 con grupos amino, 1) síntesis y 2) modificación (Hashemikia y col., 2015).....	46
Figura 11. Esquema estructural de la síntesis y funcionalización de la SBA 15 con grupos amino (Li y col., 2017).....	46
Figura 12. Imagen de HRTEM del material de sílice mesoporoso SBA 15.....	61
Figura 13. Imagen de SEM del material de sílice mesoporoso SBA-15.....	62
Figura 14. Representación esquemática del mecanimos de liberación de activos (Casasús y col., 2008).....	65
Figura 15. Imagen de una burbuja generada por ondas ultrasónicas de alta energía. Dentro de la burbuja, en la interfase y en el medio masivo (Daryabor, M y col., 2017).....	76

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunos ejemplos de la clasificación de antioxidantes (céspedes y col., 2000).....	19
Tabla 2. Clasificación de los materiales mesoporosos.....	36
Tabla 3. Propiedades texturales de la SBA 15.....	37
Tabla 4. Distribución de compuestos para curva de calibración.....	49
Tabla 5. Diseño experimental.....	51
Tabla 6. Propiedades texturales de los catalizadores.....	58
Tabla 7. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación 4 horas donde, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba -NH ₂ representan el despues de la encapsulación.....	67
Tabla 8. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en el proceso de agitación de 4 horas.....	68
Tabla 9. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación 18 horas donde, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba NH ₂ representan el despues de la encapsulación.....	70
Tabla 10. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en proceso de agitación de 18 horas.....	70
Tabla 11. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación ultrasónica, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba NH ₂ representan el despues de la encapsulación.....	72
Tabla 12. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en el proceso de agitación ultrasónica.....	73
Tabla 13. Cuadro comparativo que establece la situación ideal esperada donde se encapsularía más metabolito.....	73
Tabla 14. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito, comparando los 3 métodos realizados.....	74

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Isotherma de adsorción-desorción de N ₂ del material de sílice mesoporoso SBA 15.....	55
Gráfica 2. Isotherma de adsorción-desorción de N ₂ del material de sílice mesoporoso SBA 15 NH ₂	56
Gráfica 3. Distribución del diámetro de poro del material de sílice mesoporoso SBA-15.....	57
Gráfica 4. Distribución del diámetro de poro de la sílice mesoporoso SBA-15-NH ₂	58
Gráfica 5. Patrón de difracción de rayos X a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15.....	59
Gráfica 6. Patrón de difracción de rayos X a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15 -NH ₂	60
Gráfica 7. Patrón de difracción de rayos-X a altos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15.....	60
Gráfica 8. Curva de calibración y cuantificación de Fenoles totales.....	66
Gráfica 9. Curva de calibración y cuantificación de Flavonoides.....	66
Gráfica 10. Curva de calibración y cuantificación de Taninos condensados.....	66
Gráfica 11. Curva de determinación de capacidad antioxidante DPPH.....	67
Gráfica 12. Curva de determinación de capacidad antioxidante ABTS.....	67
Gráfica 13. Curva de calibración y cuantificación de fenoles.....	68
Gráfica 14. Curva de calibración y cuantificación de flavonoides.....	68
Gráfica 15. Curva de calibración y cuantificación de taninos condensados.....	69
Gráfica 16. Curva de determinación de capacidad antioxidante DPPH.....	69
Gráfica 17. Curva de determinación de capacidad antioxidante ABTS.....	69
Gráfica 18. Curva de calibración y cuantificación de fenoles.....	71
Gráfica 19. Curva de calibración y cuantificación de flavonoides.....	71
Gráfica 20. Curva de calibración y cuantificación de taninos condensados.....	71
Gráfica 21. Curva de determinación de capacidad antioxidante DPPH.....	72
Gráfica 22. Curva de determinación de capacidad antioxidante ABTS.....	72
Gráfica 23. Espectro de las nanopartículas de sílice mesoporosa 15 sin funcionalizar blanco.....	78
Gráfica 24. Espectro de nanopartículas de sílice mesoporosa 15 funcionalizadas con grupos amino blanco.....	79
Gráfica 25. Espectro de la muestra de chile pimienta deshidratada.....	81
Gráfica 26. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación magnética de 18 horas.....	85
Gráfica 27. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación magnética de 4 horas.....	89
Gráfica 28. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación ultrasónica.....	90
Gráfica 29 A) TG y B) DP de la SBA 15 sin funcionalizar.....	95
Gráfica 30 A) TG y B) DP de la SBA 15 funcionalizada con grupos amino.....	95
Gráfica 31 A) TG y B) DP de la muestra fresca.....	96
Gráfica 32 A) TG y B) DP de la muestra agitación magnética SBA 15 sin funcionalizar (agitación 4 horas).....	97
Gráfica 33 A) TG y B) DP de la muestra agitación magnética SBA 15 funcionalizada (agitación 4 horas).....	97
Gráfica 34 A) TG y B) DP de la muestra agitación ultrasonica SBA 15 funcionalizada.....	98
Gráfica 35 A) TG y B) DP de la muestra agitación ultrasonica SBA 15 funcionalizada.....	98

I. INTRODUCCIÓN

Desde sus orígenes, el hombre siempre ha estado en contacto y ha tratado de conocer y comprender la naturaleza, ya que de esta dependía y depende su supervivencia. Gracias a esta interacción, se ha dado cuenta de lo complejo que son sus dos componentes principales de la naturaleza: la fauna y flora. Cabe resaltar que, en especial esta última, hay ciertas plantas que pueden otorgar grandes beneficios hacia la salud debido principalmente a los componentes presentes en sus frutos, tallos, hojas, semillas etc. Sin embargo, aprendió e identifico que no todos son beneficios para la salud. Hay sustancias que son tóxicas y puede provocar la muerte. Consecutivamente, aprendió a clasificar estas plantas y a distinguirlas, el cual involucró saber cuáles eran dañinas y cuáles eran benéficas.

Con el paso del tiempo, identifiqué y aislé unas moléculas llamadas metabolitos secundarios o biomoléculas, las cuales están presentes ya sea en las plantas o sus frutos. Las clasifiqué de acuerdo a sus componentes y a su estructura molecular (De Witt y Bosland, 2009).

Es sabido que algunos de estos metabolitos secundarios tienen propiedades antioxidantes, las cuales pueden ayudar a prevenir enfermedades crónicas no transmisibles, que, son causadas por dos tipos de factores; externos: contaminación del aire, suelo y del agua, radiación electromagnética, humedad, suplementos nutricionales, cigarro entre otras; e internas como: metabolismo, mutaciones genéticas, bacterias, virus, entre otras. Una opción para prevenir y tratar estas enfermedades crónicas no transmisibles es mediante el consumo de estos metabolitos secundarios encontrados en las plantas y/o sus frutos (Natella y col., 2008).

En el presente trabajo se cuantificarón 3 tipos metabolitos secundarios de naturaleza fenólica (compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos condensados) procedentes del pimiento fresco color rojo variedad Fascinato, capacidad antioxidante por DPPH y ABTS, así mismo, fue realizó la encapsulación de estos compuestos a base de sílice mesoporosa SBA 15 sin funcionalizar y funcionalizada con grupos amino.

II. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles se ha incrementado con el paso de los años, todo esto debido a varios factores, tales como; mala alimentación, radiación electromagnética, contaminación (smog, incendios, humo del cigarro, etc); actualmente se han hecho varias investigaciones para aislar una clase de metabolitos secundarios (compuestos fenólicos), los cuales, aportan beneficios a la salud. Estos compuestos fenólicos pueden ser encontrados en las frutas y verduras. Gracias a estos compuestos fenólicos y debido a su capacidad antioxidante, pueden ser usados para prevenir las enfermedades crónicas no transmisibles (Bernal y col, 2010)

Sin embargo, debido a factores internos del cuerpo humano, especialmente los factores gástricos, pueden desestabilizar su estructura molecular y por lo tanto, disminuir su capacidad antioxidante.

Por otra parte, debido a estas causas, se ha reportado que el silicio es un material muy utilizado en aplicaciones de encapsulación de fármaco, proteínas, antioxidantes, nutraceuticos, etc; debido a que este material puede proteger la estabilidad de las mismas.

En la presente investigación, se pretendió aprovechar estas propiedades antioxidantes y aprovechar estas propiedades de protección para encapsular los compuestos fenólicos y así poder aprovechar al máximo todos los beneficios antioxidantes de los compuestos.

III. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Hoy en día, gracias a los grandes avances en la ciencia y en la tecnología, la comunidad científica especializada en farmacología, ha sido capaz sintetizar activos para combatir unas enfermedades que cobran miles y miles de vidas día con día. A estas enfermedades se les conoce como enfermedades crónicas no transmisibles, tal como el cáncer y la diabetes. Lamentablemente estas enfermedades hasta el día de hoy al parecer no tienen cura, pero la noticia emergente es que se ha logrado sintetizar activos para el control de ellas. Dado a esta causa y al costo que tiene al tratarlas, un camino óptimo para estas enfermedades es su prevención.

La forma más eficiente que existe para prevenir estas enfermedades es tener una dieta rica en frutas y verduras principalmente, dado a que estas son fuente de unos compuestos llamados biomoléculas. El principal interés de estos compuestos es que se ha reportado que estos pueden prevenir dichas enfermedades crónicas no transmisibles

La cuantificación de estas biomoléculas es un proceso importante a considerar porque de acuerdo a la calidad del proceso y de los solventes usados, la cantidad de cuantificación será exitosa. Un factor importante a considerar en el proceso de cuantificación es mantener su estabilidad y su actividad antioxidante. Por ello, se debe de encontrar un material para su encapsulación que pueda ayudar a prolongar su estabilidad y actividad antioxidante. En este trabajo se utilizó el silicio debido a sus propiedades de biocompatibilidad, baja toxicidad y bajo costo.

IV. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

La encapsulación de compuestos fenólicos del pimiento morrón con nanopartículas de sílice mesoporoso SBA 15 y SBA 15 con grupos amino (Nps SBA 15 y SBA -NH₂), pudiera evitar el deterioro estructural y aumentar la actividad antioxidante de estos compuestos fenólicos. Estas propiedades de los metabolitos secundarios se mantendrían o perduraría mucho más tiempo.

V. OBJETIVOS

V.1 Objetivos generales.

Cuantificar y encapsular compuestos fenólicos del chile pimiento morrón bajo condiciones de invernadero a base de Nps SBA 15 y SBA -NH₂

V.2 objetivos específicos

- Extraer y cuantificar los compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados encontrados en el chile pimiento antes y después del proceso de encapsulación en Nps SBA 15 y SBA -NH₂
- Determinar y evaluar la actividad antioxidante de los compuestos por ABTS y DPPH, antes y después del proceso de encapsulación en Nps SBA 15 y SBA -NH₂
- Encapsular los compuestos fenólicos con Nps SBA 15 y SBA -NH₂ como agente de pared en agitación magnética a 4 y 18 horas, y agitación ultrasónica.

VI. ANTECEDENTES

El chile pimienta pertenece a la familia de las Solanaceae. Esta familia comprende aproximadamente 98 géneros y unas 2700 especies, con una gran diversidad de hábitat, morfología y ecología. También hay otros tipos de verduras que pertenecen a esta familia las cuales son: la berenjena, la petunia, la papa, el tabaco y el tomate. Todas las especies del pimienta son originarias de la parte occidental pero también son encontradas en las regiones tropicales del continente americano principalmente en Latinoamérica. Los frutos del pimienta maduros listos para cortar pueden ser de color rojo, naranja, café, amarillo, verde, o blanco (De Witt y Bosland, 2009)

El chile pimienta es muy apreciado debido a su picor, su sabor, aroma, como alimento aditivo, pigmentos y por sus usos fisiológicos y farmacéuticos. Este tipo de chile es económicamente importante en México, no solo por su preparación para los platos regionales como parte de la gastronomía Mexicana mundialmente famosa, sino también debido a la vasta calidad y variabilidad genética que es producida en todo el territorio Mexicano, principalmente las especies picantes (Cisneros y col., 2007)

Los pimientos, además de contener metabolitos pungentes llamados capsaicinoides, también contienen otros compuestos de interés como son: los carotenoides y los compuestos fenólicos, los cuales son usados como agentes antioxidantes. La concentración y composición de carotenoides, clorofila, antocianinas, carotenos α y β entre otras; son las responsables del color de los pimientos. La principal razón por la cual existe mucho interés en los pimientos es que aportan beneficios a la salud. El principal interés de estas moléculas es debido a que aportan protección contra enfermedades, tales como: el cáncer, previenen úlceras gástricas, estimulan la inmunidad del sistema nervioso, protectores contra enfermedades cardiovasculares, entre otras (Pugliese y col., 2013)

VI.1 Compuestos con actividad biológica

VI.1.1 *Metabolitos secundarios.*

Los metabolitos secundarios, también conocidos como nutraceuticos, son productos de metabolismo no esenciales para un crecimiento normal, desarrollo o reproducción de un organismo. Estos compuestos sirven para cumplir con los requerimientos secundarios de los organismos. Las fuentes que producen estos tipos de moléculas son las plantas (cultivos, raíces, ramas, hojas, frutos de las plantas), las bacterias, los hongos, y algunos organismos marinos. (Vaishnav y col., 2011).

Entre los metabolitos más destacantes están: los alcaloides, flavonoides, glicosidos, saponinos, esteroides, taninos, terpenos, compuestos fenólicos y sus macromoléculas subclasificadas, con igual actividad antioxidante. En la tabla 1, se puede apreciar algunos ejemplos de la clasificación de los antioxidantes.

Varios reportes han mostrado que muchos de estos compuestos presentan protección antibacterial, antifúngico, antiviral, antiprotazario, antihelmíntico, antidiarreico, anticancerígeno, anti-inflamatorio y actividades antidiabéticos debido (Martin y col., 2015)

Tabla 1. Algunos ejemplos de la clasificación de antioxidantes (Céspedes y col., 2000)

Origen	Acción
1. Exógenos	
Vitamina E	Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres hidroxilo, captura $O_2^{\cdot-}$, neutraliza peróxidos
	Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres del hidroxilo, captura $O_2^{\cdot-}$, regenera la forma oxidativa de la vitamina E
Betacarotenos, flavonoides, licopenos	Neutraliza el oxígeno singlete
2. Endógenos	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio, magnesio
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutación peroxidasa (GPx)	Selenio
3. No enzimáticos	
Glutación	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q, Ácido Tiocico	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)

Gracias a estas propiedades antioxidantes y bioactivas, han sido utilizados por más de la población mundial debido a la demanda que presentan como una nueva alternativa para el control de enfermedades. Gracias a esto, la demanda ha estado en constante crecimiento considerablemente durante estas últimas décadas (Jiménez y col., 2013)

También se ha reportado que son agentes anticancerígenos, reducen la cantidad de colesterol en la sangre, actúan como inmunosupresores, como agente antiparásitos, diagnóstico y como herramientas de investigación. Varios de estos han sido involucrados en la prevención de desórdenes biológicos, muchos de los cuales no tenían cura hasta que estos productos fueron descubiertos (Vaishnav y col., 2011).

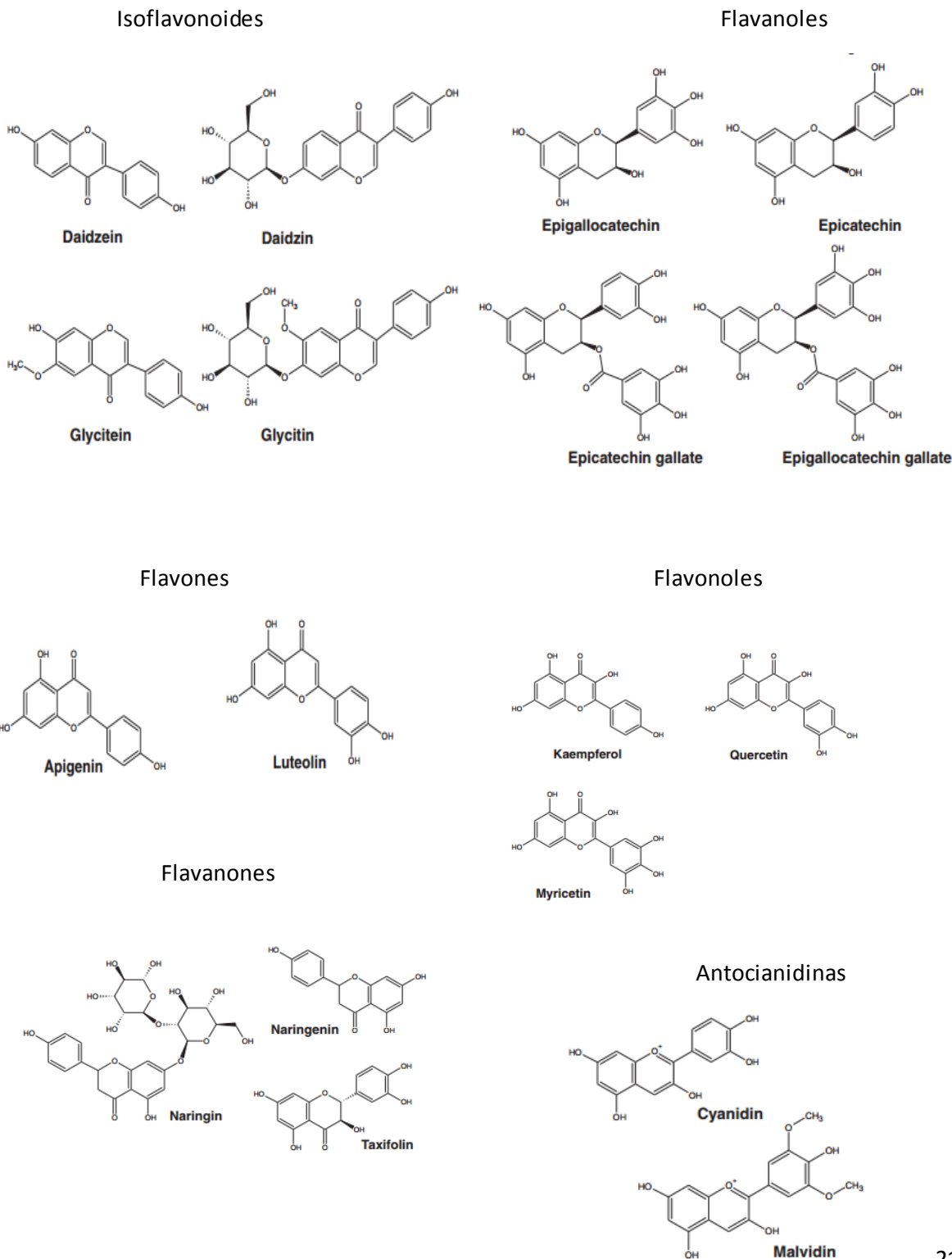
VI.1.1.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, los cuales constituyen las sustancias activas más extensas, son encontrados en muchas plantas medicinales. Estas moléculas modulan la actividad de un amplio rango de enzimas y receptores celulares entre otras actividades. Aparte de tener propiedades antioxidantes, los polifenoles (fenoles unidos en cadena) tienen varias acciones biológicas específicas que son todavía poco entendibles. Además, no todas las moléculas fenólicas son absorbidas de igual. Esto es debido a su origen y de su estructura molecular. Un punto importante necesario conocer con cierta precisión es la biodisponibilidad de estas, para así poder evaluar su actividad biológica dentro de los tejidos o partes específicas del cuerpo humano (Manach y col, 2012)

Estas moléculas comprenden un gran número de componentes, los cuales son: los flavonoides, ácidos fenólicos, y taninos, entre otros. Los flavonoides constituyen el grupo más amplio de fenoles en las plantas. Estas representan más de la mitad de los ocho mil compuestos fenólicos presentes en la naturaleza. Las variaciones en los patrones de sustitución del carbono en el anillo en la estructura de estos compuestos resulta caracterizar a los flavonoides unos de otros, como por ejemplo los flavonoles, las flavonas, los flavonones, los flavanoles, las isoflavonas y las antocianidinas. En la figura 1 se muestra ejemplos de las moléculas más comunes de origen fenólica (Martins y col., 2011)

Principalmente, las verduras y las frutas son fuente de los metabolitos secundarios, los cuales son los encargados o usados para defenderse ellos mismos en situaciones de estrés, ataques o repeler otros organismos. En los alimentos, estos componentes actúan como pigmentos, antioxidantes, precursores de sabor, etc; y hoy en día como parte de nuestra dieta (Bernal y col, 2010)

Figura 1. Algunos ejemplos de las estructuras moleculares de los diferentes tipos de flavonoides encontrados en las plantas: Isoflavonoides (Daidzeína, Daidzina, Gliteína, glicitina), Flavanoles (Epigalicatequina, Epicatequina, Epicatequina Galate, Epigalicatequina Galate), Flavones (Apigenina, Luteolina), Flavonoles (Kaempferol, Quercetina, Miricetina), Flavonoles (Naringina, Naringenina, Taxifolina) y Antocianidinas (Cianidinas, Malvidina) (Martins y col., 2011)



El método clásico para analizar los componentes totales fenólicos es el método Folin-Ciocalteu. En este método, las mediciones cambian de color y están asociadas con la reducción del reactivo molibdeno-tungsteno inducido por los fenoles en la muestra. Recientemente la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés) se ha convertido en el método analítico para analizar los componentes fenólicos. El HPLC fue el primero usado para la determinación de los flavonoides en 1976 por Fisher y Whaton. Desde entonces, varios métodos han sido desarrollados para la detección y cuantificación de componentes fenólicos, siendo la cromatografía de líquidos, la técnica más usada y también algunas técnicas espectroscópicas (Bernal y col., 2010).

VI.1.1.1.1 Taninos

Los taninos son moléculas secundarias derivadas de los compuestos fenólicos. Estructuralmente son ésteres de azúcares y ácidos carbónicos fenólicos o policondensados de catequinas (flavan-3-ol). Ellos están clasificados en base a su estructura molecular en dos grupos: los taninos hidrolizables y los taninos condensados. Los taninos se caracterizan por una alta actividad química y una variedad de efectos biológicos tales como efectos antitumorales, anti-mutagénicos, antivirales, antiinflamatorios, entre otras; varios efectos de los taninos han sido asumidos ser no solo con acción antiradical sino también con interacciones enzimáticas, receptores y con factores de transcripción (Sekowski y col., 2014).

Es común creer que los taninos interfieren en la descomposición de ciertos compuestos debido a dos actividades principalmente: la especificidad de unión con las proteínas y de la capacidad antioxidante (Adamczyk y col., 2014).

Las características que distinguen a los taninos de los otros tipos de taninos básicamente son sus propiedades de formar enlaces con proteínas, sus componentes básicos en su estructura molecular y también su actividad antioxidante. Estas características que presentan los taninos son de gran ayuda para establecer diferencias analíticas cualitativas y cuantitativas entre ellos. Al mismo tiempo a estas moléculas se le ha relacionado una alta presencia de

actividad biológica y farmacológica con efectos positivos benéficos sobre la salud. Sin embargo, los taninos hidrolizables han recibido menor atención en lo que se refiere a su impacto a la salud posiblemente debido a las dificultades en su identificación, aislamiento, purificación y cuantificación (Okuda e Ito, 2011).

VI.1.1.1.2 Flavonoides

Los flavonoides son una familia de compuestos fenólicos casi ubicuos en plantas. Más de 500 flavonoides distintos han sido identificados. Químicamente, los flavonoides consisten de un heterociclo benzopirano ligado a un anillo de benceno. Ellos están divididos en grupos diferentes dependiendo en el grado de oxidación del carbono en la posición 4, los patrones de hidroxilación y de la sustitución de la posición del carbono 3 (Testai L., 2015).

Las principales fuentes de estas moléculas, son: las frutas y las verduras. Pero, a pesar de eso, ha habido evidencias de que el té es la mayor fuente de estos, especialmente para los flavonoides y las flavonas, la cuales contribuyen 300 mg del consumo de la dieta diaria en la población de Polonia. Sin embargo, la mayor fuente de los flavonoles son las espinacas y las cebollas (120–160 mg/100 g). La principal fuente de flavones son las alcachofas, aceitunas negras y hojas de apio, el limón, naranja y el jugo de naranja para las flavononas, frutas rojas (arriba de 1300 mg/100 g) para antocianidinas, mientras que los isoflavones son encontrados casi exclusivamente en los productos de soya (100,400 mg/100 g). (Ilaria Peluso y Maura Palmery, 2015)

Se han llevado a cabo varios estudios epidemiológicos y se han determinado que el consumo de flavonoides tiene asociación benéfica contra el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer. Desafortunadamente, estas moléculas no son sintetizadas por el cuerpo humano y por eso deben ser obtenidas por los alimentos (frutas y verduras principalmente). Hoy en día más y más personas, debido a los beneficios que otorgan los flavonoides, están siendo incluidas en su dieta diaria el consumo de alimentos ricos en flavonoides (Magiera y col., 2014)

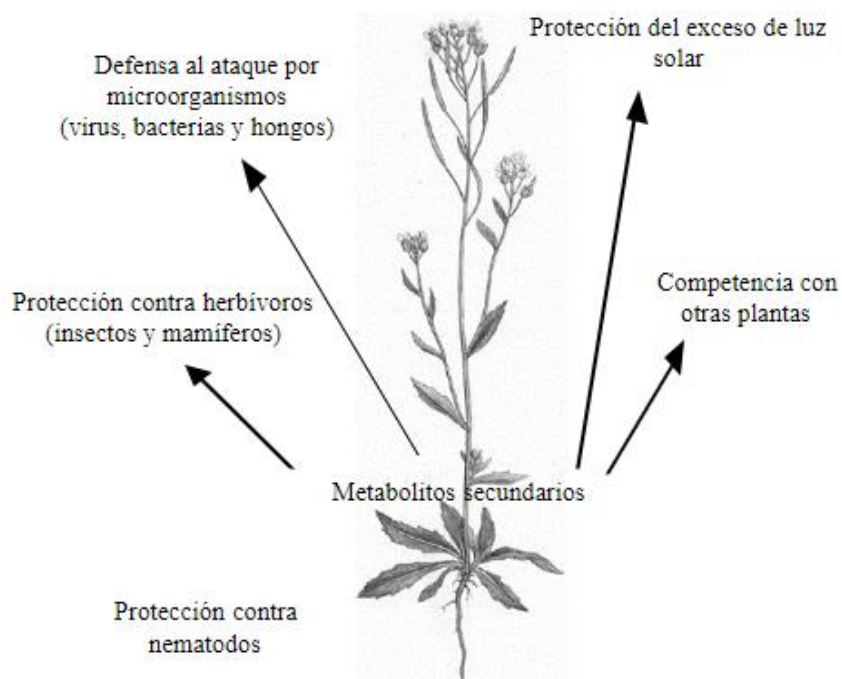
VI.1.2 Factores que pueden afectar la producción de metabolitos secundarios

El valor nutricional del pimiento es muy alto, debido a que es una excelente fuente de compuestos fenólicos, vitamina C. (ácido ascórbico), vitamina A, β -caroteno, complejo B, complejo E entre otras; y minerales tales como el molibdeno, manganeso, folato, potasio y tiamina. El pimiento contiene siete veces más vitamina C que las naranjas. Los β -carotenos y la vitamina C, A y los compuestos fenólicos en el pimiento son antioxidantes potenciales que destruyen a los radicales libres. Por esta razón hay mucho interés de cuantificar estos metabolitos debido a sus beneficios terapéuticos (Joshi y col., 2009).

Gracias a estos compuestos presentes en el pimiento, es muy importante encontrar un método para controlar crecimiento de la planta, tratar de que la pérdida de los cultivos sea pequeña, no afecte la síntesis de sus moléculas nutricionales y ayude al cultivo a sintetizar metabolitos para su defensa contra agentes adversos (Sezen y col., 2014).

El estrés abiótico y biótico ha restringido el potencial de rendimiento de los cultivos. Factores abióticos que pueden influir significativamente en el rendimiento y calidad de los pimientos son las extremas de temperatura, humedad, luz, nutrientes y pH entre otros. Los factores bióticos que afectan su rendimiento son las bacterias, hongos y virus (Figura 2). Esto quiere decir que es muy importante manipular estos factores, debido a que pueden influir en la producción de metabolitos secundarios y también cambiar el crecimiento de la planta. En otras palabras, el afán de la sobre producción de estos metabolitos es de autoprotegerse de las amenazas bióticas y abióticas (Joshi y col., 2009).

Figura 2. Algunos factores bióticos y abióticos que influyen en el crecimiento de la planta y producción de metabolitos secundarios (Sepúlveda y col., 2003)



El crecimiento con agua alterada (con nutrientes y/o iones) también es uno de los factores más influyentes que pueden intervenir en el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Una insuficiente cantidad de agua suministrada al cultivo durante sus etapas de crecimiento y en la proliferación de su flor o fruto, puede provocar cambios en el rendimiento y en la calidad del pimiento. Para que se logre un alto rendimiento, se debe de suministrar una cantidad adecuada de agua durante todo el ciclo entero del cultivo (Sezen y col, 2014).

VI.1.3 Actividad antioxidante

Los antioxidantes pueden ayudar al organismo a reducir el estrés causado por efectos de los radicales libres. Los radicales libres son especies capaces de existir con uno más electrones desapareados en su capa externa molecular. Estos electrones libres han sido implicados en la generación de cáncer, osteoporosis, diabetes, desordenes neurodegenerativos y envejecimiento entre otras. Los antioxidantes protegen al organismo contra estos radicales libres y son vitales para neutralizar el daño causado por los radicales libres con una adecuada cantidad de antioxidantes (Tamuly y col., 2013)

La eficiencia de los antioxidantes depende rotundamente de tres propiedades: uno es debido a la habilidad para limpiar o mediante la donación de hidrógenos para equilibrar la oxidación de los radicales libres. Otra propiedad es la capacidad de disminución de la energía de oxidación de los radicales libres y otra por último, su desempeño para prevenir la auto-oxidación de los antioxidantes en radicales libres (Topalović y col., 2013).

Para conocer más sobre las características y propiedades de los metabolitos, existen diferentes ensayos que han sido introducidos para medir la capacidad antioxidante de alimentos y muestras biológicas. En años recientes, se ha desarrollado un amplio rango de ensayos espectrofotométricos que han sido adoptados para medir la capacidad antioxidantes de alimentos. Los métodos más populares son los ensayos 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) y el 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), entre otros, tales como: la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (oxygen radical absorbance capacity), y la capacidad reductora férrica de plasma (ferric reducing ability of plasma) (Floegel y col., 2011).

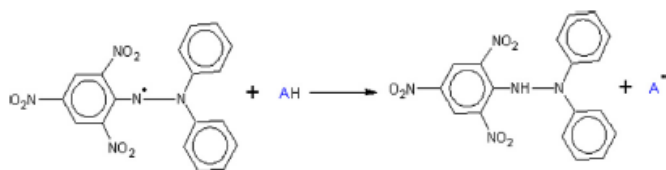
VI.1.3.1 DPPH

Todos los antioxidantes son diferentes en cuestión de actividad y comportamiento frente a radicales libres. Por eso es muy importante conocer y determinar la actividad antioxidante de algunos metabolitos secundario de interés. El ensayo del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) es uno de los métodos comúnmente más usados porque en términos generales, es simple, eficiente y no es costoso. El método original fue desarrollado por Blois (1958) y, con unas modificaciones introducidas por Brand-Williams, Cuvelier, y Berset (1995), es usado ampliamente como un punto de referencia (Brand-Williams y col., 1995).

El DPPH es un radical estable el cual presenta un color morado intenso, fuerte y presenta una banda de absorción que oscila en un rango de 515-520 nm. En la presencia de compuestos antioxidantes, el DPPH puede aceptar un solo electrón o un átomo de hidrogeno por molécula de antioxidante para ser convertida a una moléculas de DPPH más estable, ósea a la forma reducida del DPPH (figura 3) (Khalid y col. 2013).

Su color de absorbancia pasa de color morado intenso a color amarillo; y así, por lo tanto, es posible determinar la actividad antioxidante estudiando el cambio de color espectro-métricamente. El color del morado fuerte a color amarillo solamente nos indica que tanto DPPH ha sido neutralizado. Es importante mencionar que este método ha sido aplicado usando muchos y diferentes protocolos, en los cuales hay diferencias al respecto en los solventes, la concentración inicial del DPPH, el volumen de la muestra, tiempo de incubación y presentación de resultados (Carmona y col., 2014)

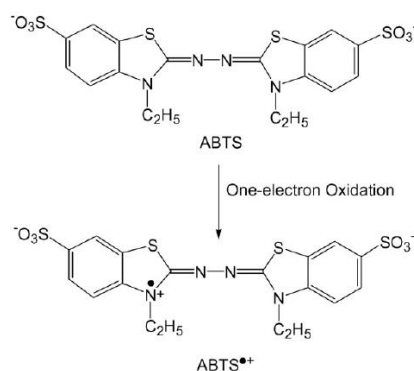
Figura 3. Reacción entre el radical libre DPPH con el antioxidante donde AH es el donador de la molécula y A es el radical libre producido (Khalid y col. 2013)



VI.1.3.2 ABTS

El 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), mejor conocido como ABTS es un compuesto muy bien conocido usado para el análisis de calorimetría para varios oxidantes químicos orgánicos e inorgánicos. La molécula de ABTS incolora se convierte a una un radical de color verde, $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (figura 4), por una oxidación de un electrón. $\text{ABTS}^{\bullet+}$ muestra una banda de absorción amplia centrada entre 415, 648, 728 y 812 nm, es conocida por ser una especie radical persistente. El ABTS ha sido usado para pruebas cinéticas para estudios de reacciones de radicales libres (Changha Lee y Jeyong Yoon, 2008).

Figura 4. ABTS y su producto al contacto con un electron, $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Changha Lee y Jeyong Yoon, 2008).



Ambos ensayos, ABTS y DPPH, son convenientes en su aplicación y, por lo tanto, son los más populares en cuestión de utilización. Sin embargo, están limitados ya que utilizan radicales no fisiológicos (Floegel y col. 2011).

Comparado con el ensayo DPPH, el método ABTS puede ser llevado a cabo en medios acuosos y orgánicos y en un amplio intervalo de valores de pH. Sin embargo, el análisis de los antioxidantes más conocidos de frutas, verduras y bebidas de la dieta de EUA sugiere fuertemente que, comparado con el ensayo de DPPH, el ensayo de ABTS estima más precisión en la capacidad antioxidante de alimentos, particularmente para esos que contienen componentes hidrofílicos, lipofílicos y pigmentos. (Carmona y col., 2014).

VI.1.4 Extracción de biomoléculas

Un punto importante y primordial para obtener un buen resultado, es fundamental buscar y seleccionar un procedimiento de extracción debido a que este pueda incrementar la concentración relativa de los metabolitos en el material tratado (Suhaj, 2006).

Hoy en día, no podríamos encontrar una línea de producción industrial en alimentos, farmacéuticos, cosméticos, nutracéuticos, o bioenergética, de las cuales no usen procesos de extracción, tales como: maceración, extracción con solventes, corriente o hidrodestilación, prensado en frío, exprimido, extracción por fase sólida, entre otras), las cuales podrían generar altos costos, no ser tan amigables con el medio ambiente. Por eso se ha estado buscando nuevos métodos con nuevas tecnologías para reducir estas causas y además, que cumplan con los requerimientos legales, alto control y seguridad del proceso, incremento en la calidad y funcionalidad (Chemat y col., 2017).

La agitación ultrasónica se ha convertido en un método convencional alternativo en sistemas de agitación en fases líquidas. Debido a que se cree que este tipo de agitación mejora la velocidad en la cual el soluto es transferido entre las dos fases gracias a que proporciona un alto rendimiento mezclando y emulsificando (Daryabor y col., 2017).

Esta es una técnica en el procesamiento de alimentos, la cual pudiera mejorar la calidad, cantidad de los componentes y la calidad del producto.

Adicionalmente, esta técnica se considera mucho más benéfica debido a su bajo consumo de energía, tiempo reducido de procesamiento y es una técnica amigable con el medio ambiente.

Este proceso actúa a niveles microscópicos. Esto es debido a que, la energía suministrada mediante ondas, fractura y rompe las paredes celulares, causa una ruptura en los enlaces entre los compuestos fenólicos y la pared celular y los libera y/o difunde rápidamente (Abid y col., 2014).

Otro punto relevante y crucial para mejorar la extracción y cuantificación de estos metabolitos secundarios, ya una vez encontrado el método de extracción, es aconsejable completar la extracción. El material debe ser secado, congelado o liofilizado debido a que, algunos metabolitos son inestables o pueden ser degradados por una acción enzimática en una muestra fresca (Suhaj, 2006).

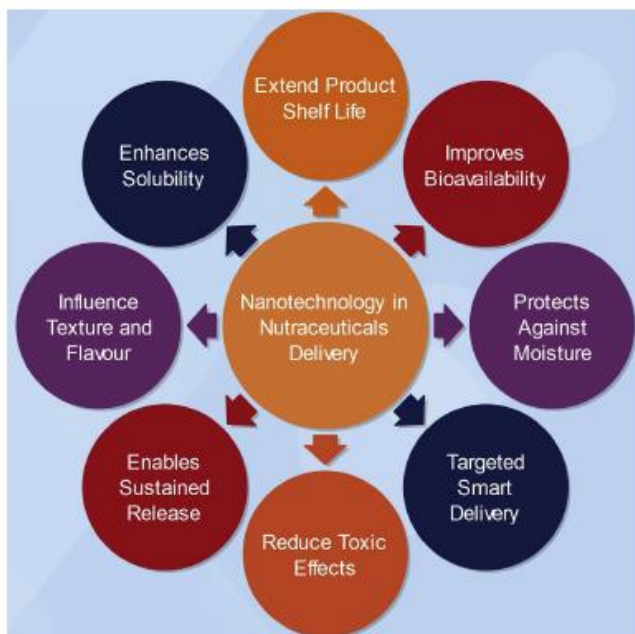
VI.1.5 Protección de metabolitos secundarios

Gracias a los increíbles beneficios de los fenoles hacia la salud, existe un gran interés para usarlos como nutraceuticos en alimentos y/o bebidas (Coradini y col., 2014).

Desafortunadamente, a pesar de sus notables contribuciones y beneficios, presenta unas desventajas que limitan su uso clínico. Los principales factores limitantes son: su baja solubilidad acuosa, pobre biodisponibilidad, baja estabilidad con la luz UV y su rápida clarificación dentro del cuerpo humano. En un intento por vencer estos obstáculos, se considera como alternativa a la nanotecnología para su protección (Joye y col., 2015). Por esta razón, el interés en estos compuestos y en su encapsulación para ciertas aplicaciones en las industrias va en incremento (McClements, 2015).

Los materiales nanométricos se caracterizan por poseer propiedades únicas y características debido a su tamaño. Estos materiales están empezando a tener una consideración muy apreciable y están siendo utilizados en áreas biomédicas y médicas principalmente, todo gracias a la nanociencia y nanotecnología. En la figura 5, se muestra algunas ventajas de la nanotecnología en la encapsulación de nutraceuticos (Bijar y col. 2012).

Figura 5. Nanotecnología en liberación de nutraceuticos: larga vida útil del producto, mejoramiento en la biodisponibilidad, protección contra la humedad, liberación etiquetada inteligente, reduce los efectos tóxicos, permite una liberación sostenida, influencia en textura y sabor, mejora la solubilidad (Arora y col., 2016).



Hay muchos tipos de biomateriales extraídos y/o fabricados ya sea naturales o artificiales que han sido usados para la síntesis de sistemas de liberación controlada (Wang y col., 2015).

La preparación de nanopartículas como de: silicio, alumina, titania, zirconia, carburo de silicio, nitruro de silicio han dado increíbles propiedades fisicoquímicas que han sido exitosas y útiles en varias

áreas de aplicación (Singh y col., 2014).

Pero, particularmente las nanopartículas de silicio se han investigado muy intensamente y han probado tener alta estabilidad química y alta estabilidad térmica (Knopp y col., 2009).

Sus propiedades ópticas únicas, su alta especificad superficial, baja densidad, su capacidad de adsorción, capacidad para encapsular, biocompatibilidad y su baja toxicidad son lo que las caracterizan. Dado a estas propiedades, las nanopartículas de silicio han sido emergentes (Bijar y col. 2012).

Estas nanopartículas presentan un área superficial alta, una fina suspensabilidad en soluciones acuosas, y son relativamente inertes en los ambientes externos. Estas pueden actuar como aislantes, las cuales pueden proteger los efectos externos en las moléculas cargadas en su interior (Knopp y col., 2009).

Particularmente dentro de las nanopartículas de silicio, hay unas nano-partículas de mucho interés, estamos hablando de las nanopartículas sílice mesoporosa (MSNs por sus siglas en inglés) que han presentado tener varias ventajas como vehículos de liberación de droga. El tamaño y la forma de las partículas son fácilmente manipulables. El alto volumen de poro y el área superficial permite una carga de droga más adecuada. Debido a que pueden ser hechas a la medida permite una ingeniería más detallada para evitar interacciones biológicas no deseadas y consumo celular innecesario (Mamaeva y col., 2013).

Sin embargo, las MSNs generalmente tienen un tamaño de poro de 3 nm, los cuales son útiles para aplicación como acarreadores de biomoléculas, proteínas, fármacos, nutraceuticos, entre otras. Las ventajas de las mesoporosas son que estas pueden acomodar grandes cantidades de moléculas huéspedes y protegerlas de ser dañadas por ambientes fisiológicos (Nday y col., 2015).

De acuerdo a las investigaciones científicas, se ha reportado que si, efectivamente hay un gran mejoramiento en la solubilidad, la estabilidad, incremento de la biodisponibilidad oral y un mejoramiento en los efectos terapéuticos cuando se comparan con sus respectivas biomoléculas no encapsulados (Coradini y col., 2014).

Todo esto tiene una meta en común, la cual es mejorar la biodisponibilidad de vitaminas solubles en agua, nutraceuticos y activos para su liberación en regiones hidrofílicas e hidrofóbicas como en tejidos y/o regiones específicas (McClements, 2015).

Tales investigaciones y aplicaciones sobre los sistemas de encapsulación, también frecuentemente llamada nanomedicina, ha ganado recientemente tremendas atención. En contraste, las aplicaciones de la nanotecnología en nutraceuticos y farmacéutica están en constante crecimiento debido a que las nanopartículas son capaces de entrar en los tejidos del sitio dañado (Wang y col, 2014).

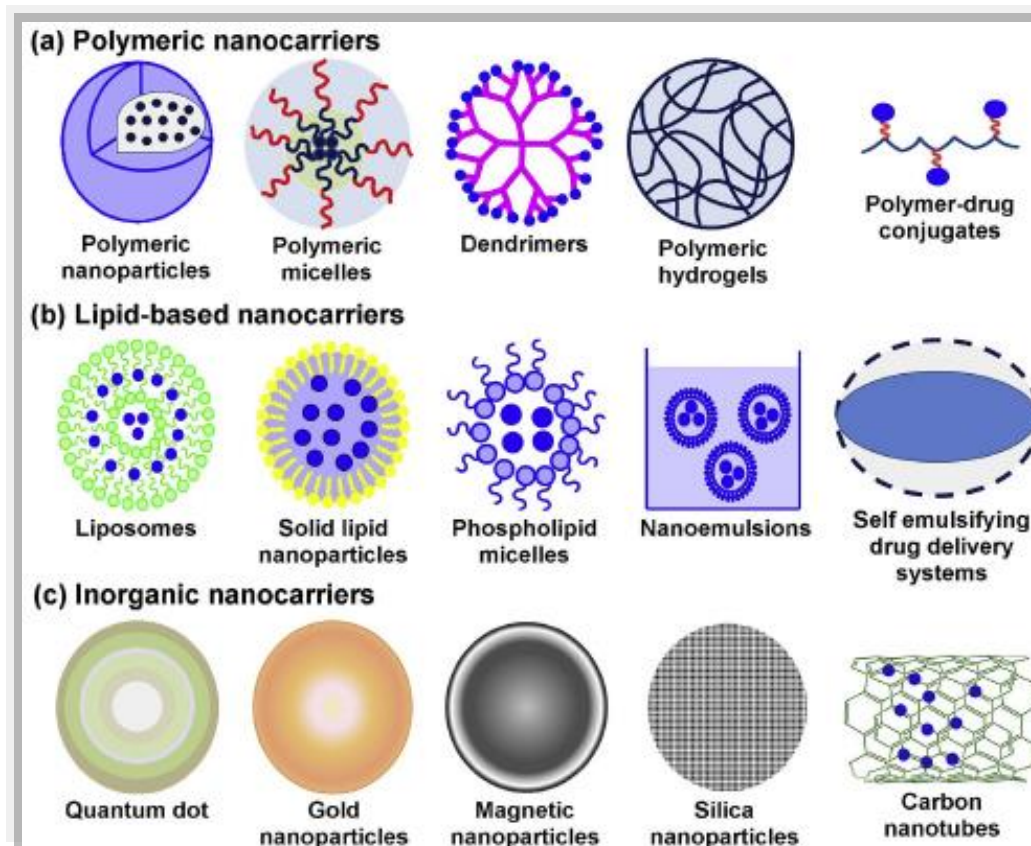
Esta rama de la ciencia busca ofrecer soluciones a base de nanotecnología para problemas médicos con el propósito principal de mejorar la biodisponibilidad de las biomoléculas o drogas reduciendo efectos secundarios, mas efectividad y un régimen amigable al paciente reduciendo la concentración de droga y la frecuencia de dosificación, ofreciendo una administración más fácil y una seguridad mejorada (Mamaeva y col., 2013)

VI.1.6 Encapsulación

VI.1.6.1 Nanoencapsulación

Las nanopartículas pueden ser definidas como sólidos, acarreadores de activos de dimensiones sub-micrométricas que pueden ser o no biodegradables. Actualmente, hay varios sistemas de liberación controlada sobre investigación, algunos de ellos son: las micropartículas, nano partículas, liposomas, dendrimeros, emulsiones, entre otras (figura 6). Dado a las investigaciones desarrolladas durante estos últimos 25 años, las nanopartículas es lo más prominente. Una característica sobresaliente de estas es su liberación sustancial (El-Naggar y col., 2015)

Figura 6. Tipos de sistemas estructurales nanometricos usados para la encapsulación y liberación de activos. (a) nanoacarreador poliméricos: nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, dendrimeros, hidrogeles poliméricos, conjugados de polímero-activo. (b) nanoacarreadores basados en lípidos: liposomas, nanopartículas solidas lipidias, micelas fosfolipidas, nanoemulsiones, sistemas de liberación porolongada autoemulsificantes. (c) nanoacarreadores inorgánicos: puntos cuánticos, nanopartículas de oro, nanopartículas magnéticas, nanopartículas de silicio, nanotubos de carbono (Arora y col., 2016).



Los acarreadores de activos con ligandos específicos o funcionalizados son el camino más viable y efectivo para detectar regiones específicas dañinas. Se ha reportado que estos acarreadores presentan efectos adversos leves, por lo tanto se están considerando bastante en biomedicina. Las nano partículas multifuncionales con propiedades fisicoquímicas y etiquetas apropiadas podrían permitirnos diagnosticar enfermedades y evaluar tratamientos más eficientes, mientras son monitoreadas durante el procesos liberación de activo (Li y col., 2015).

Por otro lado, un aspecto muy importante de la funcionalización es evitar su desecho del cuerpo. Se sabe que el sistema retículo endotelial, principalmente el hígado y el bazo, son los principales obstáculos para las nano partículas dirigidas porque tienen la habilidad de reconocerlas, las remueven del sistema circulatorio y, consecuentemente, evitan la eficiencia de la entrega del activo a los otros órganos o tejidos de interés dañados. La funcionalización de estas nano partículas con diferentes materiales tanto sintéticos o naturales es la manera más común de funcionalizar y dirigir específicamente estas nano partículas (Pinto y col, 2006).

VI.1.6.2 Microencapsulación

La microencapsulación puede ser definida como un proceso por el cual, las partículas del material solidas o liquidas son envueltas con una capa continua de material polimérico (caparazón) para producir capsulas en un rango micrométrico o milimétrico (Benita, 2006). Hay varias técnicas para este tipo de encapsulación pero, unas de las técnicas muy útiles y usadas actualmente predominan el uso de micro sonicación, nanosizing, dispersión de sólidos entre otras (Fjtz, 2014)

Básicamente, la estabilidad y la actividad biológica del activo no deberían afectarse durante el proceso de la encapsulación. Por ende, el rendimiento y la eficiencia de la encapsulación del activo tienen que ser alta. Otro aspecto a retomar es que la cualidad de la micro-partícula y su perfil de liberación del activo debe ser específica en un límite de tiempo sin exhibir problemas de agregación o adherencia (Benita, 2006).

Otro aspecto, tal y vez el más importante. es que se deben de cuidar parámetros importantes como: la temperatura, presión, tiempo de extracción, tamaño de partícula, luz entre otros aspectos para la extracción. Para asegurarnos de que la micro encapsulación fue eficiente se deben hacer caracterizaciones como por ejemplo análisis térmicos (Romo y col., 2012).

VI.1.7 Materiales para encapsulación

VI.1.7.1 Materiales Mesoporosos

Los sólidos porosos tienen la capacidad para interaccionar con átomos, iones o moléculas no solamente en sus superficies sino a través del interior de la pared de sus poros.

Los materiales Mesoporosos son aquellos que tienen un diámetro de poro homogéneo en toda su superficie y de acuerdo a la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada) estos materiales porosos se clasifican en (Tabla 2):

Tabla 2. Clasificación de los materiales mesoporosos.

Tamaño de poro	Clasificación
Menor de 2 nm	Microporoso
De 2 a 50 nm	Mesoporoso
Mayor de 50 nm	Macroporoso

VI.1.7.1.1 *El material mesoporoso SBA-15*

El material denominado SBA 15 (Santa Bárbara Amorfo No. 15), fue desarrollado por Stucky y col., (1994).

Tiene una estructura hexagonal de poros uniformes (honeycomb-like). Puede ser preparado en un amplio rango de tamaños de poro (4.6 nm a 30 nm) y espesores de pared de poro (3.1 nm a 6.4 nm), con alta área superficial ($>800 \text{ m}^2/\text{g}$) (Tabla 3). Esto se logra variando la temperatura (35 °C a 140 °C) y tiempo de reacción (11 h a 72 h) durante su síntesis. En ocasiones el tamaño de poro se puede modificar agregando un agente de hinchamiento como el 1,3,5-trimetilbenceno (mesitileno).

Tabla 3. Propiedades texturales de la SBA 15.

Propiedad	Característica
Área superficial	800-940 m ² /g
Diámetro de poro	4.6-30 nm
Volumen de poro	1 cm ³ /g

El surfactante se puede recuperar por extracción con un solvente (etanol) o se puede eliminar por calcinación, en ambos casos se obtiene un material altamente ordenado y con estabilidad térmica e hidrotérmica.

La SBA 15 se sintetiza por el método sol-gel y por medio de un mecanismo neutral que involucra interacciones del tipo de enlaces de hidrógeno entre surfactantes neutros (copolímeros anfifílicos de tres bloques) como agentes directores de estructura y precursores inorgánicos neutros (Figura 7). El papel del surfactante es el de guiar la formación de la estructura mesoporosa.

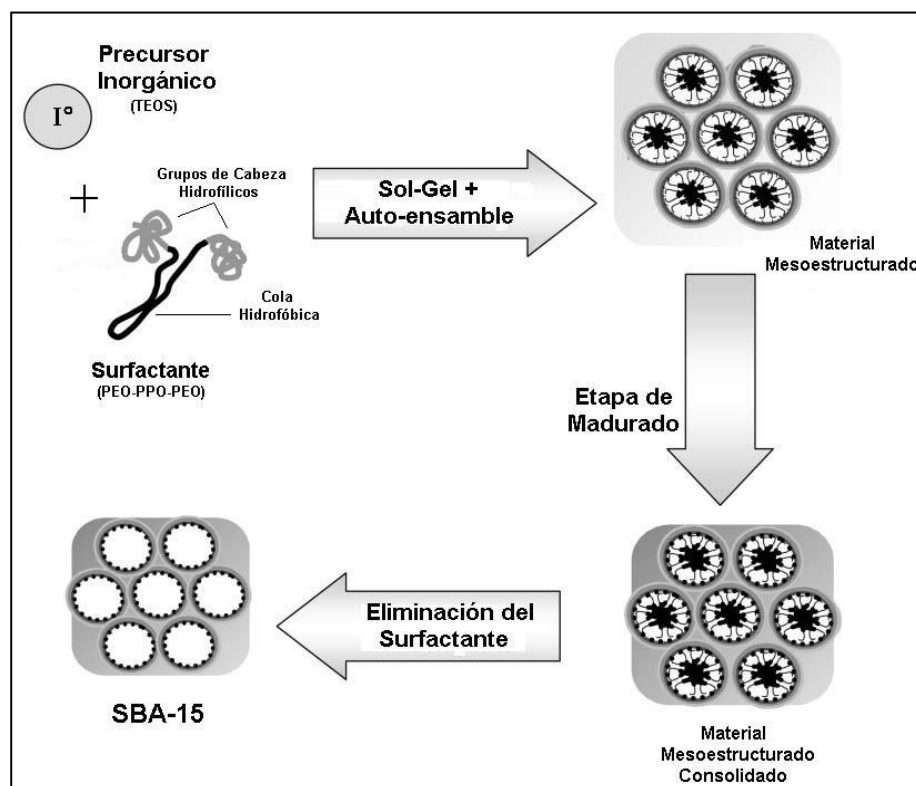
El copolímero de tres bloques es un surfactante que en solución tiene dos partes dentro de la misma molécula (un grupo de cabeza hidrofílico y una larga cola hidrofóbica) las cuales se agregan y auto-organizan de tal manera que minimizan el contacto entre sus extremos incompatibles

Con la adición del precursor inorgánico, las especies inorgánicas participan en interacciones del tipo de enlaces de hidrógeno con los grupos de cabeza del surfactante dando como resultado la formación de una mesoestructura (inorgánico-surfactante) ordenada de forma hexagonal.

Durante la etapa de madurado, la mesoestructura se consolida adquiriendo sus características finales. Finalmente, el surfactante se elimina por extracción con un solvente o por calcinación para obtener el material mesoporoso ordenado.

En la Figura 7 se presenta el mecanismo de formación de la SBA-15 (Flodstrom y Alfredsson, 2003; Lachheb y col., 2011; Van der Voort y col., 2002).

Figura 7. Mecanismo de síntesis de la sílice mesoporosa SBA-15 (Flodstrom y Alfredsson, 2003; Lachheb y col., 2011; Van der Voort y col., 2002).



VI.1.8 El Proceso Sol-Gel

El proceso Sol-Gel como su nombre lo indica, es un proceso químico homogéneo que involucra una transformación continua de una solución a una dispersión coloidal (sol) y la condensación del sol para formar una red en fase líquida continua (gel).

El proceso Sol-Gel se aplica en la preparación de una amplia gama de materiales como son materiales policristalinos y amorfos con propiedades únicas que no pueden ser obtenidas por otros métodos.

Los soles son dispersiones de sólidos coloidales de partículas muy pequeñas (diámetros menores de 500 nm) que se encuentran dispersas en un medio. No pueden observar a simple vista ni con un microscopio óptico común por lo que sólo es posible usando microscopios electrónicos.

Otra característica es que estos no pueden ser detenidos por la mayoría de los papeles filtro debido a su pequeñísimo tamaño

Los geles forman redes complejas tridimensionales, las cuales se forman mediante uniones de hidrógeno formando un sólido semirrígido. En los geles el medio de dispersión inicial se encuentra absorbido por las partículas de soles como una esponja con agua.

El proceso Sol-Gel se ha utilizado desde mediados del año 1800, ya que permite obtener materiales de alta dureza y homogeneidad a temperaturas no elevadas en comparación con otras técnicas como el método tradicional cerámico.

Muchos trabajos en el campo de la preparación de materiales inorgánicos (cerámicos) por el método Sol-Gel, se han realizado utilizando como precursores alcóxidos metálicos ya que estos brindan la posibilidad de controlar la reacción de hidrólisis y de condensación por medios químicos, además de que reaccionan rápidamente con el agua.

Los alcóxidos metálicos más ampliamente utilizados para la preparación de la sílice son los alcoxisilanos, tales como el tetrametilortosilicato (TMOS) y el tetraétilortosilicato (TEOS). También existen otros alcóxidos como los aluminatos (fuente de alúmina), titanatos (fuente de titania) titania anatasa., etc.

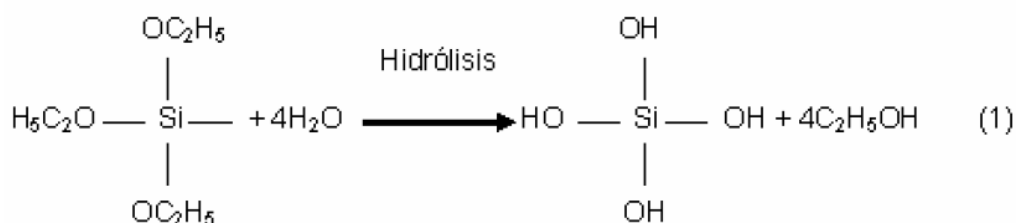
En general la síntesis de materiales cerámicos por Sol-Gel se ha reconocido por su versatilidad, y porque permite un mejor control de la textura, composición, homogeneidad y propiedades estructurales de los sólidos obtenidos. El método Sol-Gel permite obtener materiales con alta área superficial (alta porosidad).

El proceso Sol-Gel involucra diferentes etapas de las cuales las más importantes son:

VI.1.8.1 Hidrólisis y condensación de agua y alcohol

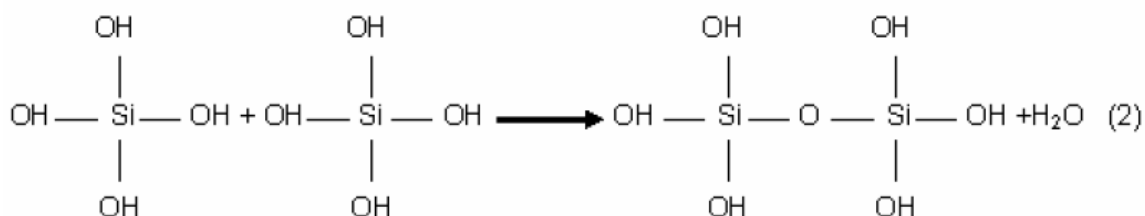
Estas etapas son las más importantes del proceso ya que en éstas se determina la estructura final que presentará el material y por lo tanto sus características físicas y químicas. Estas dos etapas se llevan a cabo simultáneamente.

Al realizar la mezcla de los reactivos, los coloides (soles) se encuentran dispersos en la solución la cual generalmente es agua y etanol. El tetraetilortosilicato (TEOS), precursor de la sílice, reacciona con el agua dándose una reacción de hidrólisis.

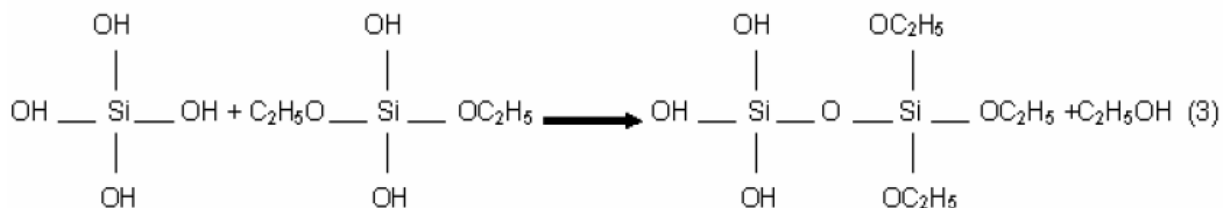


En esta hidrólisis los grupos alcóxidos (OC_2H_5) son sustituidos por hidroxilos (OH) y dan como producto etanol y silanol (hidróxidos del silicio). Simultáneamente, se llevan a cabo las reacciones de condensación para la formación de los enlaces siloxanos, Si-O-Si , que pueden ocurrir en dos formas:

VI.1.8.1.1 Reacción de condensación de agua mediante la reacción entre dos grupos hidroxilos de los hidróxidos de silicio.



VI.1.8.1.2 Reacción de condensación de alcohol mediante la reacción de un grupo hidroxilo (Si-OH) con un grupo alcóxido ($\text{Si-OC}_2\text{H}_5$).



Esta última reacción continúa realizándose, hasta formar una red sólida tridimensional (gel) la cual contiene en sus poros agua y etanol.

Existe una serie de factores los cuales van a afectar las estructuras del gel como son la temperatura, la concentración de electrolitos, la naturaleza del precursor y el tipo de alcóxido utilizado. Un factor muy importante que debemos controlar es la velocidad de reacción a la cual se realizan tanto la hidrólisis como la condensación, las cuales se controlan por el pH de la solución en la cual se realiza la reacción.

VI.1.8.2 Gelificación

Es la transformación del sol en gel. En esta etapa las partículas de sílice condensadas se unen entre sí para dar forma a una red tridimensional. Físicamente esta etapa se puede identificar por generarse un aumento en la viscosidad de la solución.

VI.1.8.3 Madurado

Esta etapa es un periodo de tiempo de reposo en el cual continúan condensándose partículas y uniéndose hasta encontrar la estabilidad de la estructura a formar.

VI.1.8.4 Secado

Consiste en la eliminación del líquido que contiene el gel, este líquido se encuentra dentro de los poros formados por la red (Akpan y Hameed, 2010).

VII. METODOLOGÍA

VII.1 Materiales

VII.1.1 Materiales inorganicos

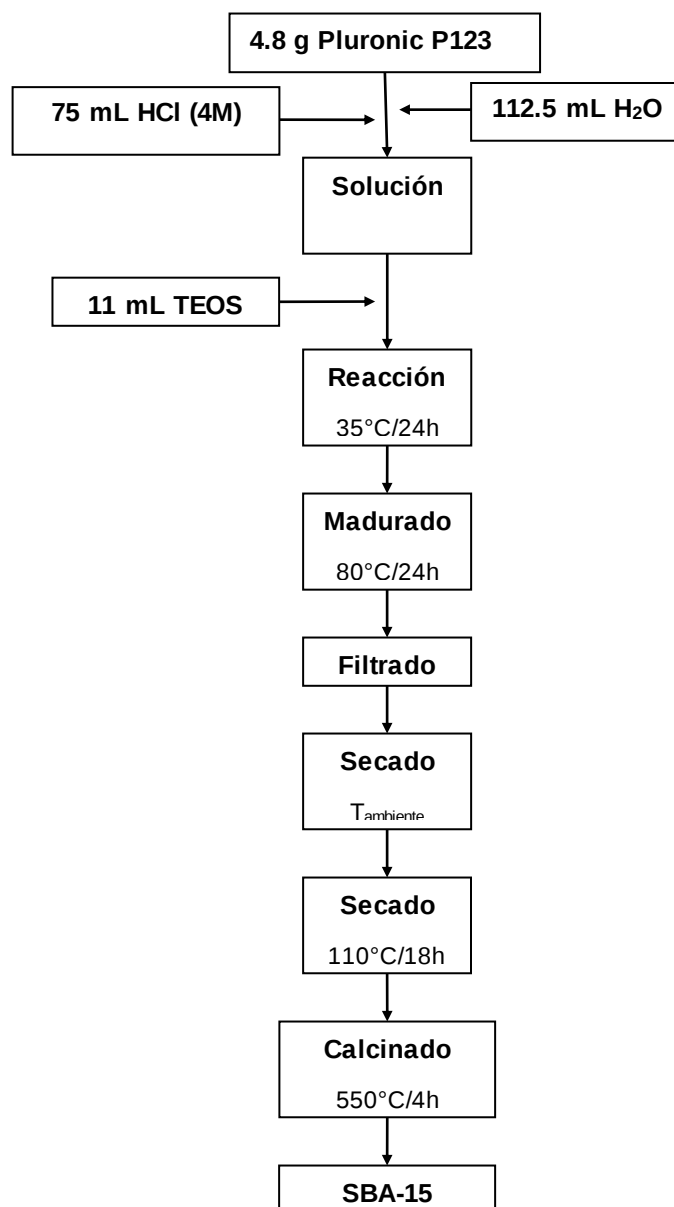
VII.1.1.1 Síntesis de la Sílice Hexagonal Mesoporosa SBA 15.

El material mesoporoso de sílice SBA 15 se sintetizó de acuerdo al procedimiento descrito por Flodström y Alfredsson (2003) y modificado por Nava y col (2007) utilizando el copolímero de tres bloques Pluronic (BASF, EO₂₀-PO₇₀-EO₂₀, P123) como agente director de la estructura y tetraetil ortosilicato (TEOS, 98%, Aldrich) como la fuente de sílice.

En una síntesis típica, el copolímero de tres bloques se disolvió en una solución de agua y HCl 4M (HCl, J.T. Baker, 36.6%) con agitación constante y a una temperatura de 35°C. Posteriormente, se adicionó a la solución anterior la cantidad requerida de TEOS y la reacción se mantuvo a 35°C y con agitación constante durante 24 h. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un bote de polipropileno y se calentó a 80°C durante 24 h sin agitación. Después de la síntesis, el sólido obtenido se recuperó por filtración, se lavó varias veces con agua destilada, se secó a 100°C y finalmente se calcinó a 500°C durante 6 h para eliminar el molde orgánico.

En la Figura 8 se presenta un esquema del procedimiento de preparación de la SBA-15.

Figura 8. Esquema del procedimiento de preparación de la SBA-15.



VII.1.1.2 Funcionalización de la SBA 15

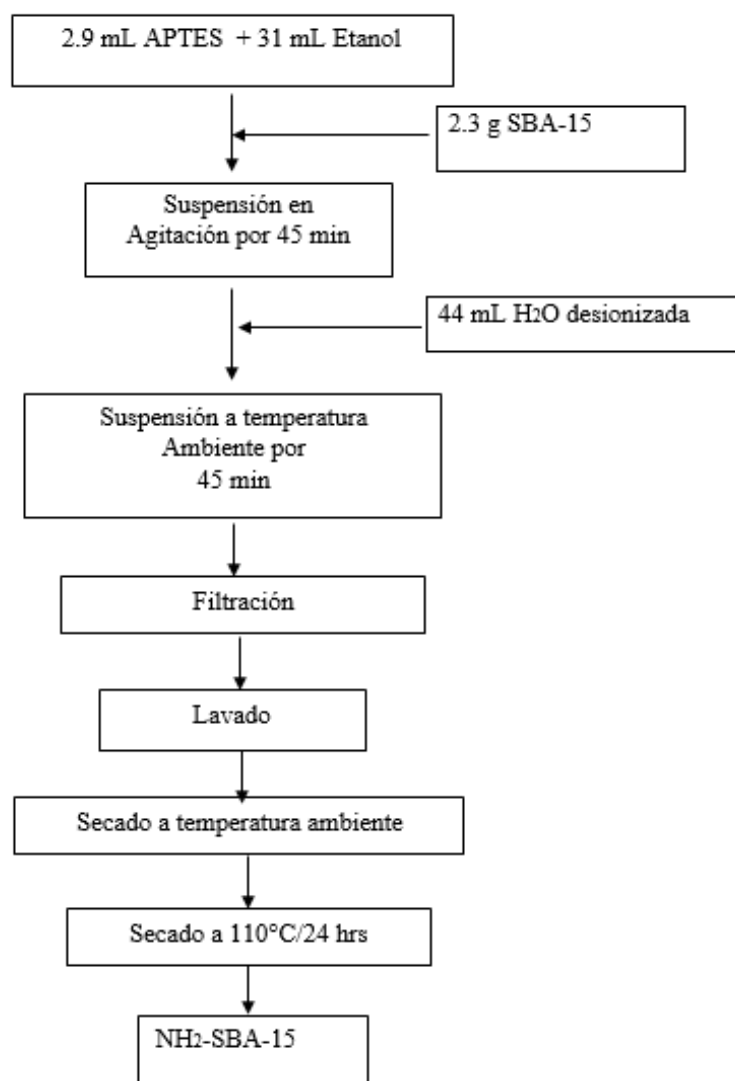
La funcionalización superficial de la SBA 15 se realizó por el método de post-síntesis (ex-situ), a partir de la SBA 15 previamente sintetizada, descrita por Nava y col 2009. La SBA 15 se dispersó en una solución de 3-aminopropil trimetóxisilano (APTMS) (precursor de los grupos funcionales NH_2 en etanol.)

La cantidad de APTMS se calculó para obtener 0.3 moles de APTMS por cada mol de TEOS.

La reacción se realizó a temperatura ambiente y en atmósfera inerte de N_2 por 60 minutos. Se adicionó agua desionizada y se mantuvo en agitación por 45 minutos. Se recuperó el sólido por filtración y se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente a 110°C por 18 horas.

Un esquema del procedimiento de funcionalización de la SBA-15 se presenta en la figura 9.

Figura 9. Esquema del procedimiento de funcionalización de la SBA-15 con grupos amino.



Basicamente, en la figura 10 y 11 se resume de una manera general, la síntesis de la nanopartículas de sílice mesoporosas y su funcionalización con grupos amino

Figura 10. Pasos para la síntesis y funcionalización de la SBA 15SBA-15 con grupos amino, 1) síntesis y 2) modificación (Hashemikia y col., 2015)

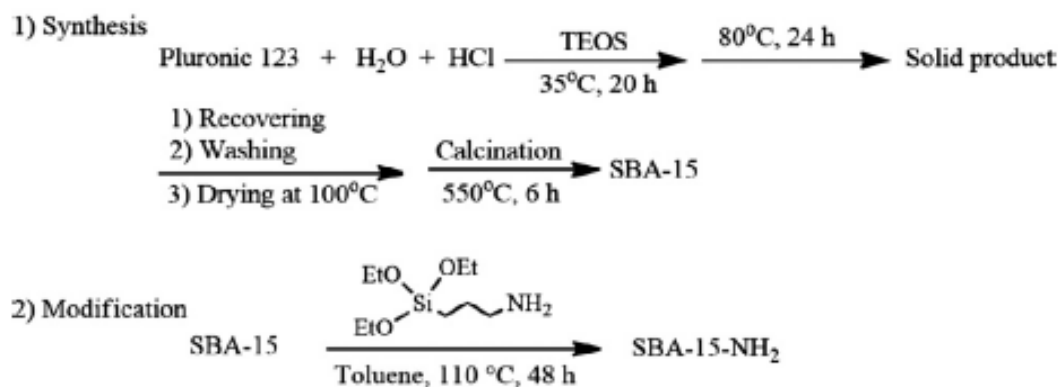
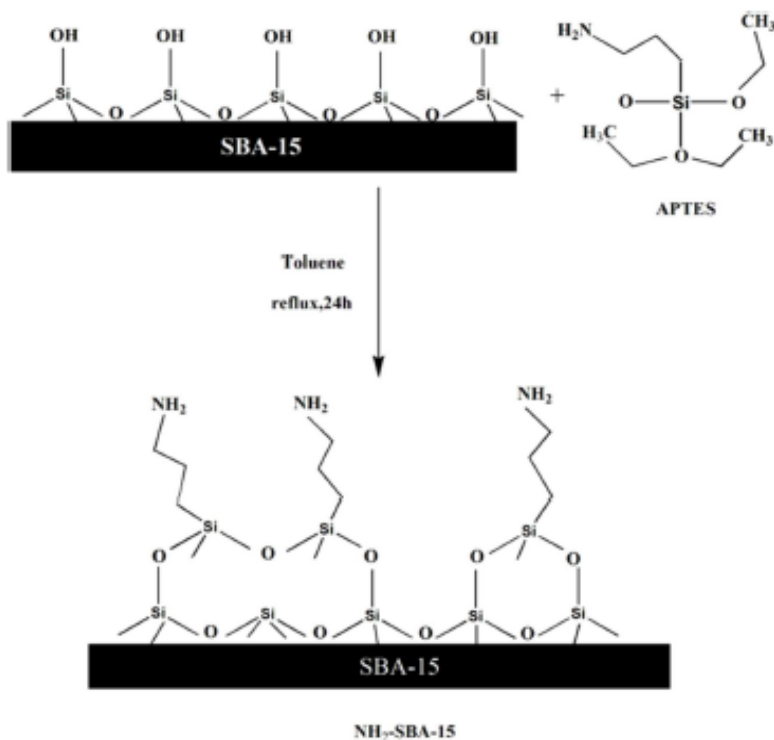


Figura 11. Esquema estructural de la síntesis y funcionalización de la SBA 15 con grupos amino (Li y col., 2017)



VII.1.2 Material biológico

Se utilizó la variedad de chile pimiento (*Capsicum Annuum L.*) en una sola variedad Fascinato sembrada en un sistema de monocultivo bajo invernadero localizado en el Centro de Investigación y Capacitación Koppert Rapel (CEICKOR)

VII.1.2.1 Métodos

VII.1.2.1.1 Extracción y cuantificación de compuestos bioactivos

La extracción se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Cardador-Martínez y col., (2002) se colocó 1 gr de muestra de chile pimiento morrón y mezcla en un tubo falcón con 10 mL de metanol. Se cubrió la muestra con papel aluminio y se agitó durante 24 h. Pasando las 24 horas, se tomó el tubo falcón con la muestra y se centrifugó a una velocidad de 5000 rpm durante 10 min a una temperatura de 4 °C. Ya centrifugada la muestra, se desechó lo precipitado y se tomó el sobrenadante.

VII.1.2.1.2 Determinación de taninos condensados

Para la cuantificación de taninos condensados se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Feregrino-Pérez y col., (2008) en microplaca. Se realizó una curva de calibración utilizando concentraciones de 0.8, 0.6, 0.2 y 0.1 mg/ml de (+)-Catequina. (La curva de calibración se realizó por duplicado, se sacó la media de absorbancia y se determinó la ecuación de la recta y la R^2).

Se colocaron 50 µL de cada concentración en la celda de 96 pozos por triplicado. Se adicionaron 200 µL de la solución 1:1 de HCl 8%: Vainillina. Se adicionó de 50 µL a cada uno de los pozos y repitió la operación hasta completar los 250 µL. Al blanco se le adicionaron 50 µL de metanol más 200 µL de HCl 4%. Para la muestra se tomaron 50 µL del sobrenadante (muestra) y se colocaron en los pozos. En seguida, se adicionaron 200 µL de la solución 1:1 de HCl 8%: Vainillina 1%. Se adicionó de 50 µL en 50 µL a cada uno de los pozos hasta completar los 200 µL, protegiendo la muestra de la luz y del oxígeno. Posteriormente, se midió la absorbancia a 492 nm en un espectrofotómetro Multiskan™ Go, Thermo scientific.

Se preparó un blanco al cual se le adiciono 50 µL del sobrenadante (muestra y se le añadieron 200 µL de HCl 4%). Se leyó en espectrofotómetro Multiskan™ Go, Thermo Scientific a 492 nm realizándose por triplicado. Se compararon con la curva de calibración y se expresaron como mg de (+) -Catequina por gramo de muestra fresca.

VII.1.2.1.3 *Determinación de flavonoides*

La determinación de los flavonoides totales se realizó siguiendo la metodología descrita por Oomah y col., (2005). Se realizó una curva de calibración para la cual se colocaron 50 µL de cada una de las concentraciones (200, 150, 100, 50, 25, 10, 2 µg/mL de rutina) por triplicado. Se adicionaron 180 de agua destilada, y se incorporaron 20 µL de solución-aminodifenil borato 1%. El blanco se realizó con 230 ml de metanol y 20 µL de solución 2-aminodifenil borato 1%, se midió en espectrómetro Multiskan™ Go, Thermo scientific a una absorbancia de 404 nm.

Para la cuantificación de las muestras se tomarón 50 µL del extracto de la muestra (sobrenadante), se adicionaron 180 µL de metanol, se adicionaron 20 µL de solución 2-aminodifenil borato al 1%, se midió la absorbancia de 404 nm en un espectrofotómetro Multiskan™ Go, Thermo scientific. Los resultados fueron interpolados a la curva del estándar y fueron expresados como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra fresca. Las pruebas se realizaron por triplicado al igual que el blanco.

VII.1.2.1.4 *Determinación de fenoles totales*

Se realizó una curva de calibración para la cual se prepararon las siguientes soluciones. La solución de Na₂CO₃ al 20%, se pesaron 5 gr de carbonato de sodio y se disolvió en 20 mL de agua destilada, se sonicó hasta disolver completamente y se aforó a 25 mL. Para la solución de ácido gálico 0.1 mg/mL, se tomarón 10 mg de ácido gálico y se aforó a 10 mL, con agua destilada. De esta solución se tomó 1 mL y se aforo con 10 mL de agua destilada.

Se rotularon los tubos y se le adicionó a cada tubo y se le adiciono a cada tubo la cantidad necesaria de la sustancia de acuerdo a la Tabla 4 y se agitó en Vortex, se dejaron reposar 2 horas en la oscuridad para posteriormente leer en un espectrofotómetro Multiskan™ Go, Thermo scientific a 760 nm.

Tabla 4 Distribución de compuestos para curva de calibración.

Tubo	Solución ácido gálico (uL)	Agua destilada (ul)	Folin	Na ₂ CO ₃
0	0	500	250	1250
1	20	480	250	1250
2	40	460	250	1250
3	60	440	250	1250
4	80	420	250	1250
5	100	400	250	1250
6	120	380	250	1250
7	140	360	250	1250
8	160	340	250	1250

Para la cuantificación de fenoles totales se tomaron 40 µL del extracto metanolico y se adicionarán 460 µL de agua destilada, 250 µL de Folin y 1250 de Na₂CO₃. Se dejó reposar por 2 horas en oscuridad para posteriormente hacer la lectura en espectrofotómetro marca Multiskan™ Go, Thermo scientific a 760 nm. Las lecturas se hicieron por triplicado.

VII.1.2.1.5 *Determinación de capacidad antioxidante DPPH*

El método original de Brand-Williams y col., (1995) modificado por Fukumoto y Mazza (2000) adaptado para microplaca. Este método se basó en la disminución de la absorbancia del radical DPPH, ya que cuando sufre reducción por un oxidante, esta absorción desapareció, lo que proporcionó un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales libres por la donación del hidrogeno, esto se observó visualmente como la decoloración del color púrpura a amarillo.

VII.1.2.1.6 *Preparación de la muestra*

Se cubrió con papel aluminio un matraz aforado a 25 mL; y se pesó en él 0.0015 g de DPPH, el cual se reservó para análisis posteriores, en una placa de 96 pozos, se añadieron 20 μ L de la muestra en cada pozo según el diseño experimental mostrado en la Tabla 5; conforme se llenaron los pozos, se taparon con papel parafilm.

En el matraz aforado que contenía el DPPH, se aforó a 25 mL de metanol, se agregó 200 μ L de ésta solución a la placa en menos de 1 minuto con la pipeta multicanal; excepto en el blanco (agua HPLC). La microplaca es leída en Multiskan™ Go, Thermo scientific bajo el programa establecido a una longitud de onda de 520 nm en el minuto 0, 4, 10, 30, 60, 90 y 120 (120 minutos) . La placa se mantuvo cubierta y en la oscuridad a temperatura ambiente entre lecturas.

Tabla 5 Diseño experimental

	1	2	3	4	5	6
A	Blanc	Blanc	Blanc	T600	T600	T600
B	Ctrl	Ctrl	Ctrl	T700	T700	T700
C	T50	T50	T50	T800	T800	T800
D	T100	T100	T100	M1	M1	M1
E	T200	T200	T200	M2	M2	M2
F	T300	T300	T300	M3	M3	M3
G	T400	T400	T400			
H	T500	T500	T500			

20 µL de muestra más 200 µL de DPPH.

Blanc= Blanco.

Ctrol= Control.

T= Trolox (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 µM).

M_{1,2,3}=Muestra 1, 2 y 3.

DPPH= 2,2-difenilpicrilhidrazilo.

VII.1.2.1.7 *Calculo de la Capacidad Antioxidante*

La actividad antiradical (ARA) se calculó como porcentaje de decoloración de DPPH, usando la siguiente ecuación (Burda y Oleszek, 2001).

$$ARA = 100 \times ((A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{control}})$$

Donde ARA= actividad antiradical, A_{muestra} fue la absorbancia de la muestra a 520 nm y A_{control} fue la absorbancia el control (ausencia de antioxidante).

VII.1.2.1.8 *Determinación de capacidad antioxidante ABTS*

El método fue desarrollado usando el ensayo 2,2'-asínobis (ácido-6-sulfúrico-3-atilbenzotiazolina) (ABTS) descrito por Nenadis y col., (2004) modificado para ser elaborado en microplaca de 96 pozos. Brevemente, una alícuota de 20 μL del extracto se mezcló con 230 μL de una solución de ABTS $\cdot^+$ previamente preparada. El control contenía todos los reactivos excepto el extracto. La absorbancia fue leída a 730 nm a 0, 30, 60 minutos en un espectrómetro marca Multiskan™ Go, Thermo scientific. Los resultados para la actividad antiradical del ABTS fueron expresados como la concentración media inhibitoria (%).

VII.1.2.1.9 *Encapsulación de los compuestos fenólicos.*

Para el estudio de incorporación de componentes fenólicos, se realizó una solución de sílice hidrolizada por la mezcla de ortosilicato de tetraetilo, agua destilada y etanol, usando ácido nítrico como catalizador (pH=3), dando como resultado nanopartículas de sílice mesoporosa SBA.

Una solución de plantilla clara sol-gel se obtuvo y se utilizó posteriormente para la incorporación de los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos se atraparán intersticialmente en la red de silicio formado durante las reacciones de poli-condensación. La mezcla se agitó magnéticamente a 4 °C durante 4 y 18 h, y ultrasónicamente durante 20 minutos para completar la reacción.

Los polvos de silicio con los respectivos encapsulados se filtraron a 24 °C durante toda la noche y se almacenaron a temperatura -5 °C y, donde subsecuentemente, se caracterizaron (Lacatusu y col, 2009).

VII.1.3. Caracterización física de los materiales

VII.1.3.1 *Isotermas de adsorción-desorción de N₂ a 77 K.*

Las propiedades texturales de la sílice mesoporosa SBA 15 y de la funcionalizada con grupos amino (SBA 15 -NH₂) se determinó mediante las isotermas de adsorción-desorción de N₂ a 77 K en un equipo Autosorb iQ2 de la marca Quantachrome. Previo al análisis, la muestra se desgasificó para asegurar una superficie seca, limpia y libre de especies débilmente adsorbidas.

El área específica de la muestra se calculó de acuerdo a la ecuación de B.E.T. (Brunauer-Emmet-Teller) utilizando los datos de la isoterma de adsorción. La distribución del tamaño de poro se calculó mediante el método de B.J.H. (Barrett-Joyner-Halenda) y utilizando los datos de la isoterma de desorción. El volumen total de poro se estimó a partir de la cantidad de nitrógeno adsorbido a la presión relativa de 0.98.

VII.1.3.2 *Difracción de Rayos X (DRX).*

El análisis por difracción de rayos X (DRX) a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15 y SBA-15 NH₂ en su forma de polvo, se realizó para comprobar la formación de la estructura mesoporosa hexagonal en la SBA 15 y la conservación de este arreglo con la funcionalización. Las mediciones de los difractogramas se registraron en un difractómetro D8 Advance de la marca Bruker, utilizando radiación monocromática Cu K α con longitud de onda $\lambda = 1.541 \text{ \AA}$ en un rango 2θ angular de 0.5 ° a 80 °.

VII.1.3.3 *Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM).*

La imagen de HRTEM de nuestro material de sílice mesoporoso SBA 15 se obtuvo en un microscopio JEOL JEM-2000FX FASTEM operando a 200 kV con muy baja iluminación para evitar la destrucción del material bajo el haz de electrones.

VII.1.3.4 *Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).*

La imagen de SEM de nuestro material de sílice mesoporoso SBA-15 se obtuvo en un microscopio JEOL JSM-6060 LV.

Las muestras en forma de pastilla se colocaron en los portamuestras y se recubrieron con carbón.

VII.1.3.5 *Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier*

Con el propósito de verificar la presencia del grupo funcional amino $-NH_2$ y los grupos funcionales principales de los metabolitos encapsulados SBA 15, a través de sus vibraciones, se realizó la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).

Los espectros de vibración de IR de las muestras en polvo, se midió en un espectrofotómetro Bruker Vector 33, en el rango de 400 a 4000 cm^{-1} , con una resolución de 2 cm^{-1} .

VII.1.3.6 *Análisis termogavimétrico*

El análisis termogavimétrico se realizó en un equipo TA Instruments modelo Q500 para medir la variación porcentual en el peso del sistema sintetizado al ser sometido a un calentamiento, y ver la variación de las eventuales descomposiciones que experimenta dicho material con la variación del tiempo.

VIII. RESULTADOS ESPERADOS Y DISCUSIONES

VIII.1 Caracterización física de la sílice mesoporosa SBA 15

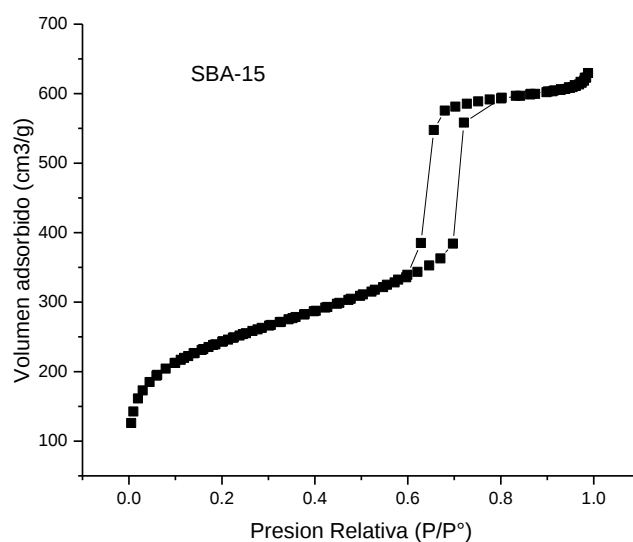
VIII.1.1 Isotermas de adsorción-desorción de N_2 a 77 K.

La gráfica 1 se exhibe la isoterma de adsorción-desorción de N_2 del material de sílice mesoporoso SBA 15. Como se puede ver en la gráfica 1, el material SBA 15 exhibió una isoterma de adsorción del tipo IV con una curva de histéresis H1 de acuerdo a la clasificación de la IUPAC (Sing y col., 1985)

Esta isoterma fue característica de los materiales mesoporosos que contienen poros cilíndricos de tamaño y forma regulares. La isoterma mostró una región bien definida en el rango de presiones relativas altas ($0.6 < P/P_0 < 0.8$) que representa el llenado espontáneo de los mesoporos debido a la condensación capilar, indicando la presencia de mesoporos uniformes.

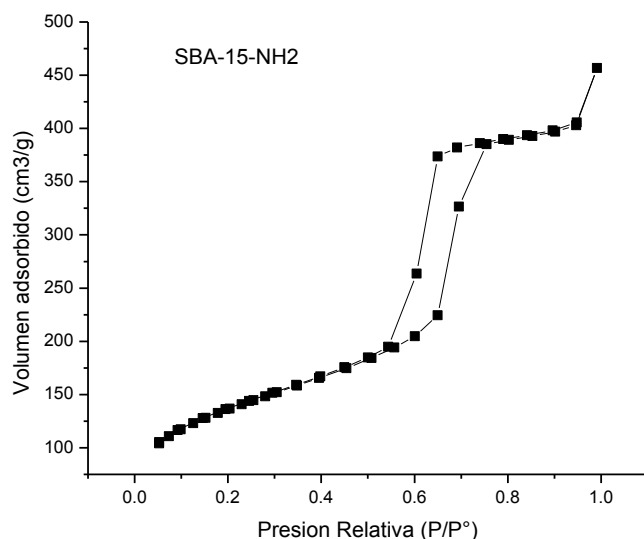
La curva de adsorción-desorción de nitrógeno del material fue muy similar a la reportada en la literatura para el material de sílice mesoporoso SBA 15 (gráfica 1) (Flodström y col., 2003).

Gráfica 1. Isotherma de adsorción-desorción de N_2 del material de sílice mesoporoso SBA-15.



La gráfica 2 exhibe la isoterma de adsorción-desorción de N₂ de la sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizada con grupos amino (SBA15 -NH₂).

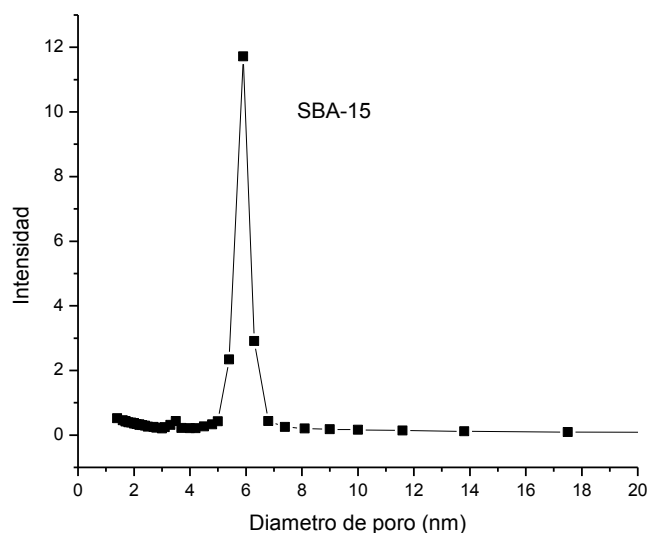
Gráfica 2. Isotherma de adsorción-desorción de N₂ del material de sílice mesoporoso SBA-15-NH₂.



La isoterma de la SBA 15 -NH₂ fue muy similar a la de la SBA 15 pura, por lo que se puede afirmar que la funcionalización de la SBA 15 con grupos amino no destruyó la estructura mesoporosa de la SBA 15.

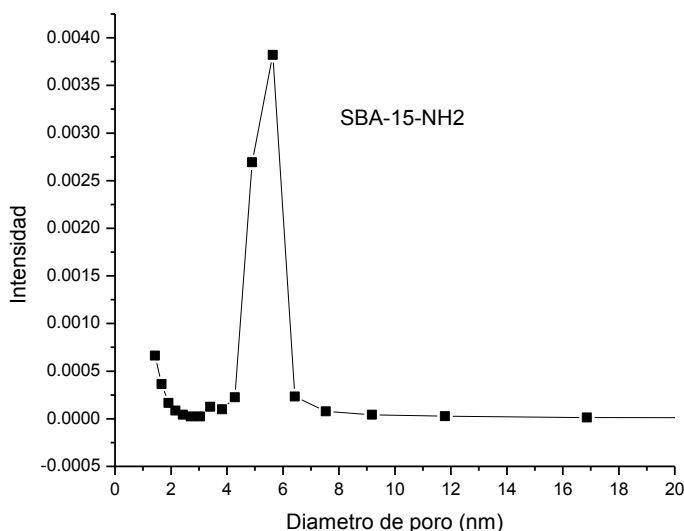
La gráfica 3 muestra la distribución del tamaño de poro del material de sílice mesoporoso SBA 15. La distribución se calculó con los datos de la isoterma de desorción mediante el método B.J.H. El material de sílice mesoporoso SBA 15 mostró una distribución uniforme en el tamaño de poro centrado aproximadamente en 6.0 nm.

Gráfica 3. Distribución del diámetro de poro del material de sílice mesoporoso SBA 15.



En la gráfica 4 se presenta la distribución del tamaño de poro de la SBA 15 funcionalizada con grupos amino (SBA 15 -NH₂). Esta distribución fue más amplia en comparación con la de la SBA 15 pura y con un máximo en el diámetro de poro 5.3 nm. Estos resultados pusieron en evidencia que los grupos funcionales amino fueron distribuido uniformemente en la superficie interna de los poros de la SBA 15.

Gráfica 4. Distribución del diámetro de poro de la sílice mesoporoso SBA 15 -NH₂.



En la tabla 6 se presenta un resumen de las propiedades texturales (área superficial, volumen promedio de poro) de la sílice mesoporosa SBA 15 y de la SBA 15 -NH₂.

En ella se observa que el material de sílice mesoporoso SBA 15 presentó una alta área superficial de 932 m²/g y un alto volumen de poro de 1.0 cm³/g.

La incorporación de los grupos funcionales amino en la superficie interna de los poros de la SBA 15 provocó una importante disminución tanto en el área superficial como en el volumen de poro. Esta situación se pudo atribuir a un posible bloqueo de poros por el precursor de los grupos aminos. Sin embargo, tanto el área superficial como el volumen de poro de la SBA 15 -NH₂ fueron apropiadas para encapsular una adecuada cantidad de compuestos bioactivos.

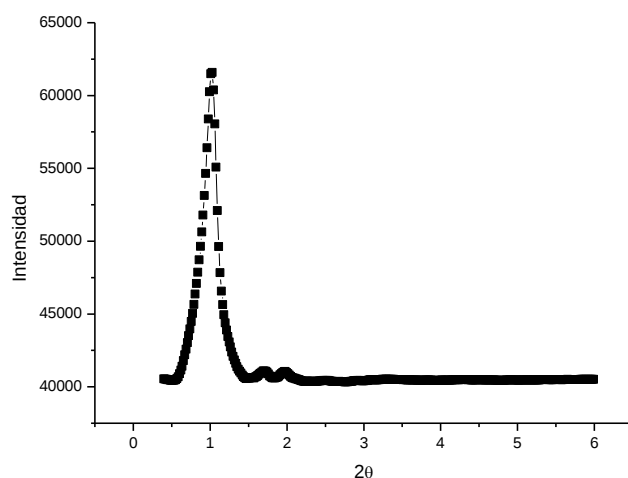
Tabla 6. Propiedades texturales de los catalizadores

Material	Área superficial (m ² /g)	Volumen de poro (cm ³ /g)
SBA-15	932.0	1.00
SBA-15-NH ₂	525.0	0.70

VIII.1.2 Difracción de Rayos X (DRX).

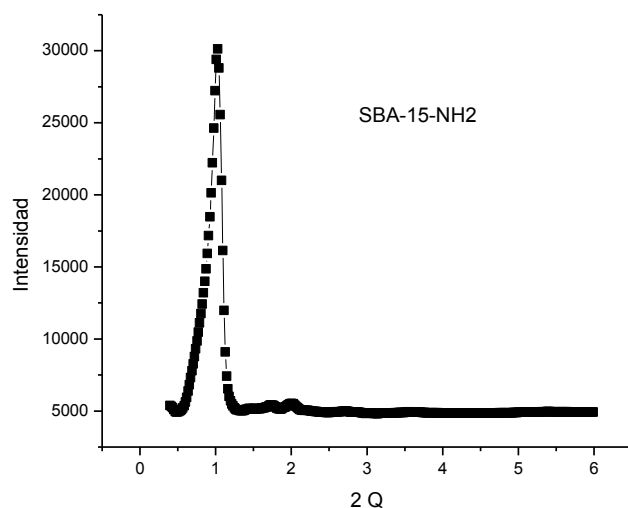
La gráfica 5 muestra el patrón de difracción de rayos X a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15. En ella se presentó una primera reflexión muy intensa en 1.0° en 2θ , seguida por otras dos reflexiones muy débiles en 1.7° y 2.0° en 2θ , que de acuerdo a la literatura corresponden a las reflexiones $[1\ 0\ 0]$, $[1\ 1\ 0]$ y $[2\ 0\ 0]$, respectivamente, asociadas con la simetría hexagonal (Flodström y col., 2003; Luan y col. 1999; Tuel y col., 2003).

Gráfica 5. Patrón de difracción de rayos X a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15.



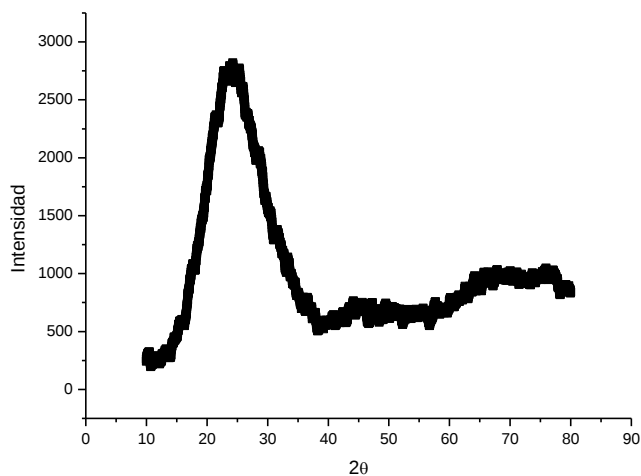
El patrón de difracción de rayos X de la sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizada con grupos amino, SBA 15 -NH₂, se exhibe en la gráfica 6. Se observa claramente que este patrón de difracción fue muy similar a la de la SBA 15 pura, indicando que la incorporación de los grupos funcionales amino en la superficie interna de los poros de la SBA 15 no alteró su estructura mesoporosa.

Gráfica 6. Patrón de difracción de rayos X a bajos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15 -NH₂



En la gráfica 7 se muestra el patrón de difracción de rayos X a altos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15. Se puede observar una reflexión amplia centrada en aproximadamente $2\theta = 24^\circ$ característica de la sílice amorfa (SiO₂).

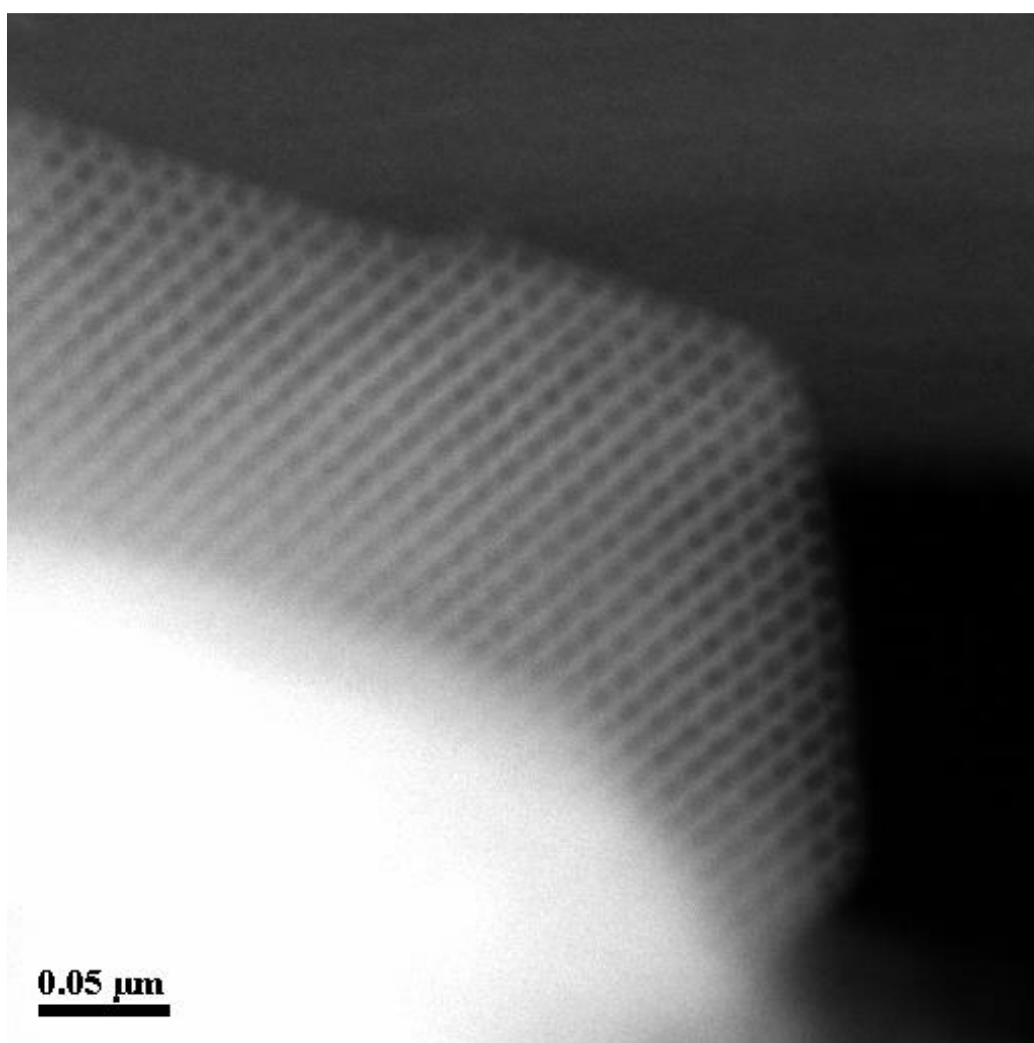
Gráfica 7. Patrón de difracción de rayos-X a altos ángulos del material de sílice mesoporoso SBA 15.



VIII.1.3 Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución (HRTEM).

La imagen obtenida por HRTEM del material de sílice mesoporoso se presenta en la figura 12. En ella se puede observar que nuestro material de sílice mesoporoso SBA 15 correspondió a una estructura mesoporosa altamente ordenada con un arreglo hexagonal de poros uniformes y que corresponde a la estructura de la sílice mesoporosa SBA 15 reportada en la literatura (Flodström y col., 2003; Luan y col 1999; Tuel y col., 2003).

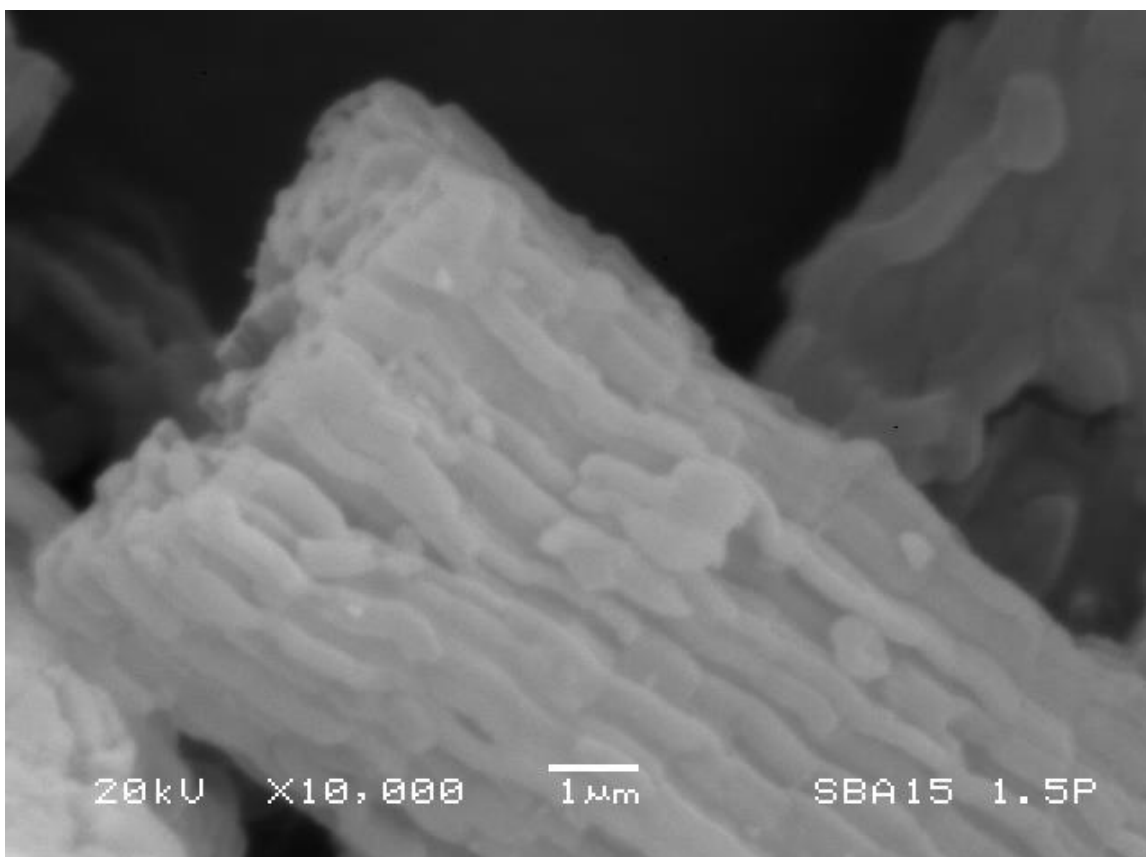
Figura 12. Imagen de HRTEM del material de sílice mesoporoso SBA 15.



VIII.1.4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

La Figura 13 muestra la imagen de SEM de nuestro material de sílice mesoporoso SBA 15. En ella se evidenció que las partículas del material de sílice mesoporoso SBA 15 tuvieron la forma de cilindros curvados de tamaño altamente uniforme (aproximadamente de 400-500 nm de diámetro y de 1-1.2 μm de longitud).

Figura 13. Imagen de SEM del material de sílice mesoporoso SBA-15.



VIII.2 Caracterización biológica

VIII.2.1 Caracterización de encapsulación y pruebas antioxidantes

De acuerdo a los procedimientos descritos en páginas previas para la determinación de taninos condensados, flavonoides y fenoles totales, se cuantificaron estos compuestos antes y posteriormente a la encapsulación. De igual manera se cuantificó la capacidad antioxidante DPPH y ABTS. Todo esto fue realizado para determinar y corroborar si existió disminución de la concentración de estos metabolitos en las soluciones restantes.

La encapsulación de los metabolitos secundarios fue realizada por 2 tipos de sistemas:

- ✓ Nanopartículas de sílice mesoporosas SBA 15
- ✓ Nanopartículas de sílice mesoporosas SBA 15 funcionalizadas con grupos amino

Todo esto fue llevado a cabo mediante dos tipos de agitación, para determinar si el tipo de agitación influye en la encapsulación de los compuestos.

1. Agitación magnética

A) Agitación magnética de 4 horas

B) Agitación magnética de 18 horas

2. Agitación ultrasónica

Se realizaron 5 gráficas para cada tipo de agitación:

- Determinación de Fenoles totales
- Flavonoides
- Taninos totales
- Actividad antioxidante DPPH
- Actividad antioxidante ABTS.

Cada grafica tiene 3 puntos: color rojo, azul y verde

- El punto rojo representa la concentración de metabolitos antes de ser encapsulados (muestra fresca o estándar)
- El punto azul representa la solución que contiene metabolitos restantes debido a la encapsulación por la sílice mesoporosa SBA 15
- El punto verde representa la solución que contiene metabolitos restantes, debido a la encapsulación por la sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizada con grupos aminos

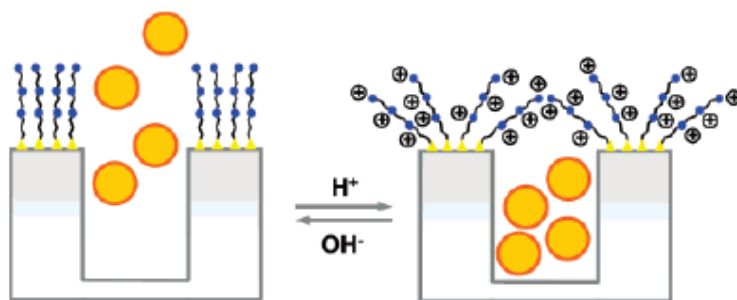
En general, en todas las gráficas, desde la gráfica 8 a la grafica 22, puede ser afirmado mediante los puntos que, efectivamente se generó una disminución en la concentración. Todo esto debido a que el punto rojo predominó (mayor concentración, como se esperaba) con respecto al punto azul y verde, los cuales están por detrás (menor concentración) del punto rojo.

El objetivo principal de las nanopartículas la sílice mesoporosa SBA-15 fue que estas pudieran ser utilizadas como dispositivos para aplicaciones de entrega controlada de agentes farmacéuticos o nutraceuticos en respuesta a cambios de pH.

En pH ácidos, los efectos de los grupos amino anclados en la sílice mesoporosa destacan debido a que estos grupos al estar en un ambiente acido (pH de 2 ± 1) se transforman en grupos amonio, los cuales forman una conformación rígida debido a las repulsiones columbicas y a la coordinación de aniones, los cuales bloquean los poros y evitan la salida de los metabolitos, funcionando como puertas.

Y por el contrario, en un pH neutro, ligeramente alcalino, es logrado liberar los metabolitos debido a que los grupos aminos están ligeramente protonados (debido a la ausencia de iones positivos) en este ambiente, la repulsión Columbica y la afinidad por estos aniones se reduce significativamente, lo cual permite que haya una abertura y liberación de metabolitos a través de los poros de la sílice mesoporosa (Ruiz-Rico y col., 2016) (Song y col., 2015), (Casasús y col., 2008) Una imagen general de este comportamiento puede ser apreciado en la figura 13

Figura 14. Representación esquemática del mecanimos de liberación de activos (Casasús y col., 2008)

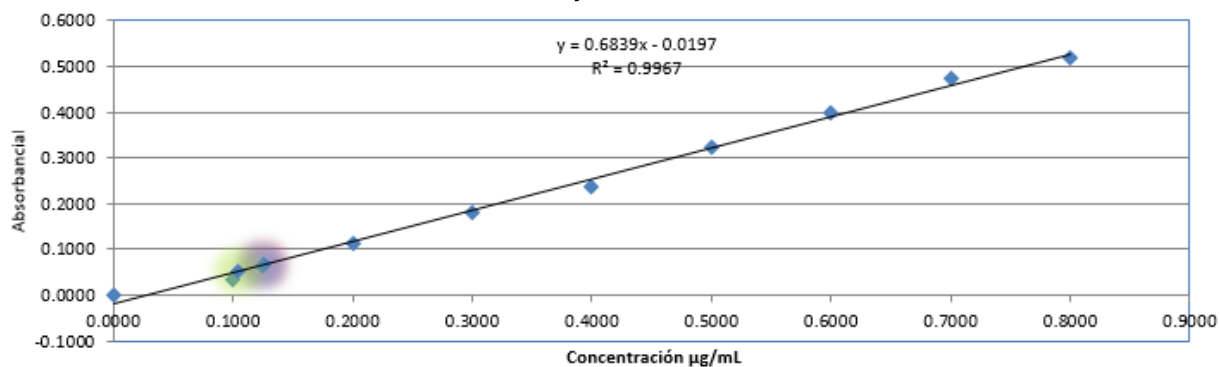


Este increíble e inteligente efecto sugiere que este material puede ser un candidato apto para la liberación de nutraceuticos y/o fármacos en el tracto gastrointestinal, debido a que los poros de la sílice mesoporosa permanecerán cerrados en el pH del estómago (pH 1.2) y comenzaran a abrirse los poros en el intestino (pH 6.8) para así, ser liberados al torrente sanguíneo (Huang y col., 2017)

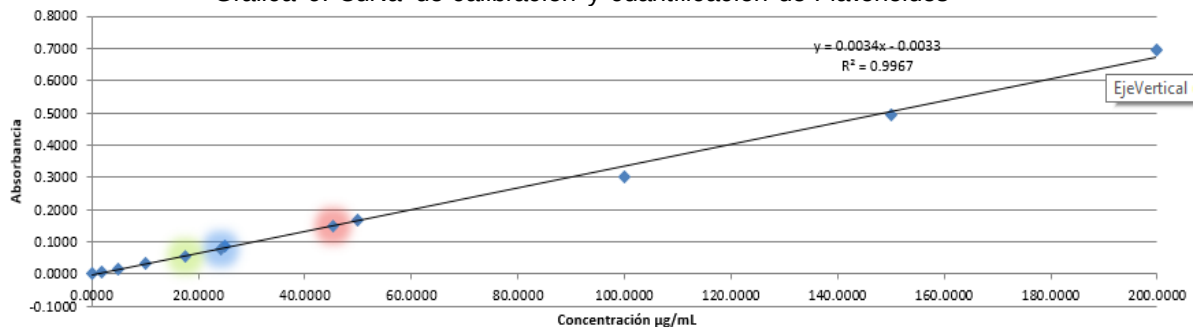
En los análisis, se esperó que la nanopartículas de sílice mesoporosas funcionalizada hubiera predominado en todas las gráficas, pero en cada método hubo variaciones (las tablas 7, 9 y 11 resumen los resultados obtenido en el proceso de agitación magnética 4 horas, 18 horas y ultrasónica respectivamente).

VIII.2.1.1 Agitación magnética 4 horas

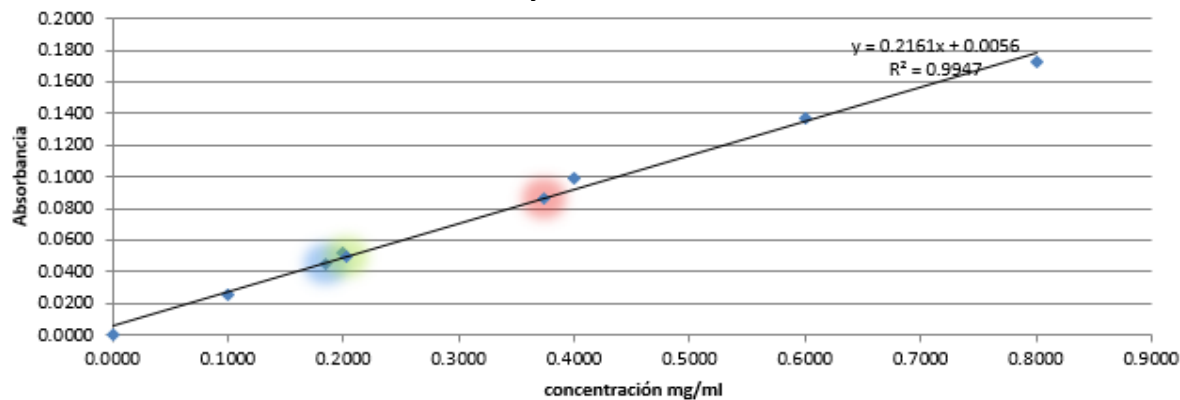
Gráfica 8. Curva de calibración y cuantificación de Fenoles totales



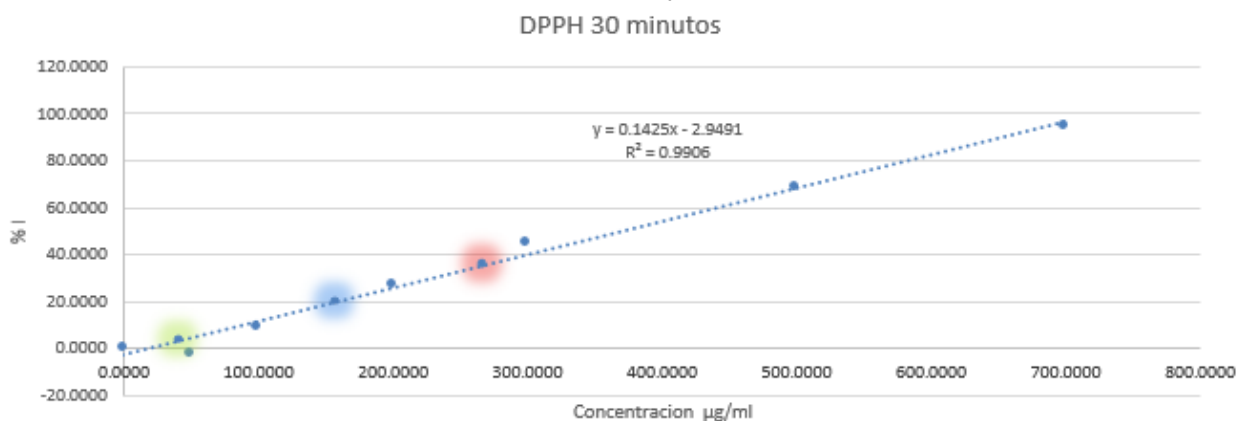
Gráfica 9. Curva de calibración y cuantificación de Flavonoides



Gráfica 10. Curva de calibración y cuantificación de Taninos condensados



Gráfica 11. Curva de *determinación de capacidad antioxidante DPPH*



Gráfica 12. Curva de *determinación de capacidad antioxidante ABTS*

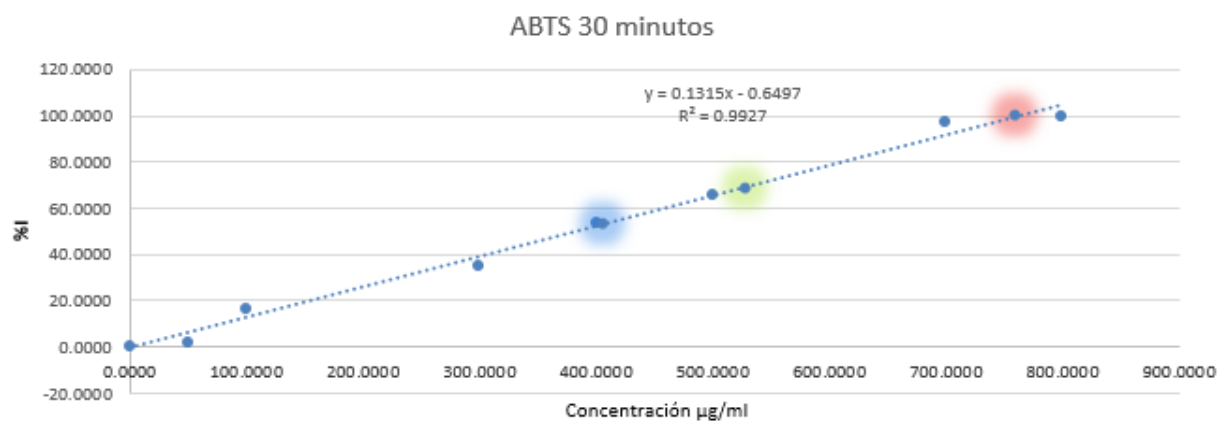


Tabla 7. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación 4 horas donde, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba -NH₂ representan el después de la encapsulación

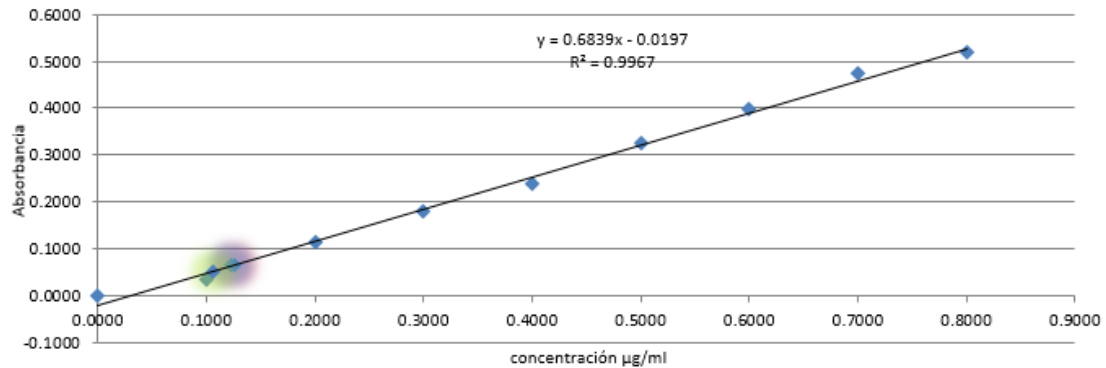
AGITACION MAGNETICA 4 HORAS					
	fenoles (µg/ml)	flavonoides (µg/ml)	taninos (µg/ml)	DPPH (inhibición)	ABTS (inhibición)
Muestra fresca	0.1258	45.1895	0.3730	35.1535	99.2595
Residuo sba	0.1240	24.1144	0.1850	19.5377	52.9782
Residuo sba NH ₂	0.1046	17.5229	0.2020	3.2133	68.6936
Capsulas sba	0.0303	-0.6010	0.0001	-5.2551	-4.7480
Capsulas sba NH ₂	0.2978	-1.3011	0.1003	6.8990	13.1570
% encapsulación sba	98.5692	53.3628	49.5979	55.5782	53.3734
% encapsulación sba NH ₂	83.1479	38.7765	54.1555	9.1408	69.2061

Tabla 8. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en el proceso de agitación de 4 horas

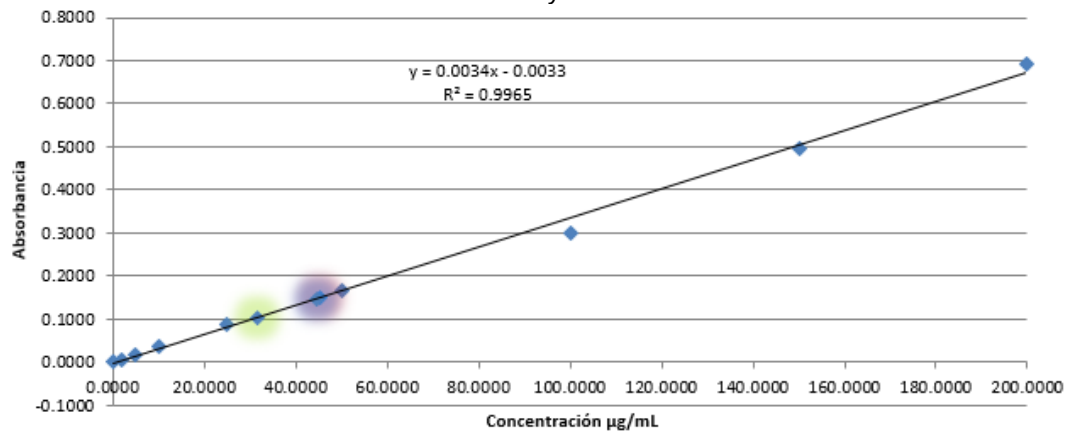
	Sílice mesoporosa	Sílice mesoporosa funcionalizada
Fenoles totales		predominó
Flavonoides		predominó
Taninos condensados	Predominó	
DPPH		predomino
ABTS	Predomino	

VIII.2.1.2 Agitación magnética 18 horas

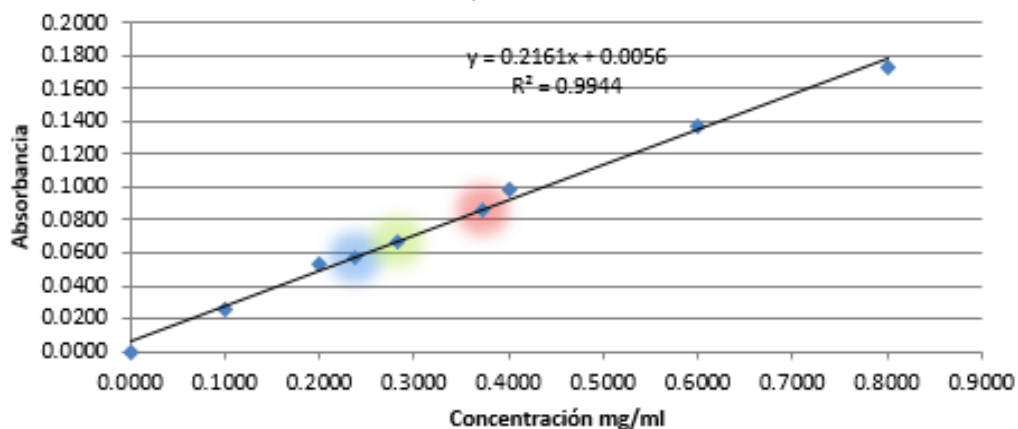
Gráfica 13. Curva de calibración y cuantificación de *fenoles*



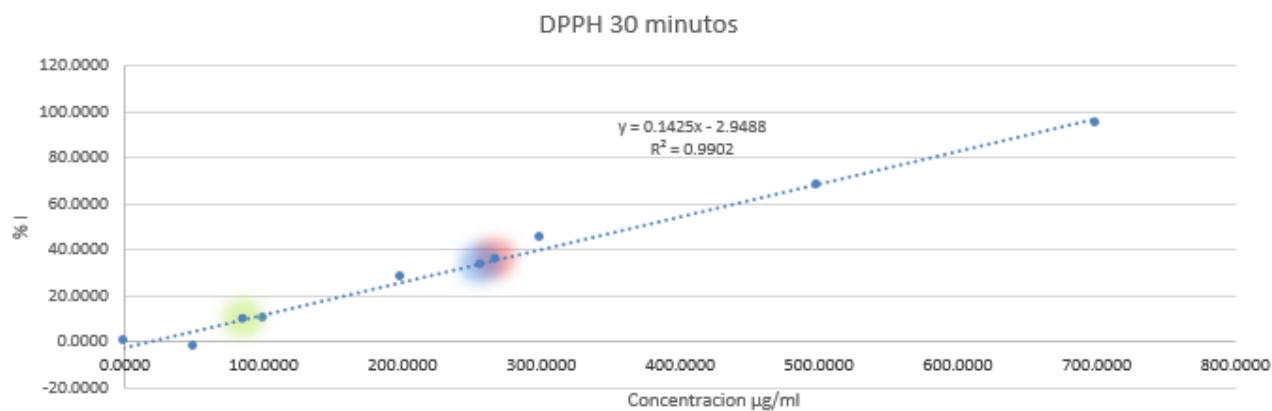
Gráfica 14. Curva de calibración y cuantificación de *flavonoides*



Gráfica 15. Curva de calibración y cuantificación de *taninos condensados*



Gráfica 16. Curva de determinación de capacidad antioxidante DPPH



Gráfica 17. Curva de determinación de capacidad antioxidante ABTS

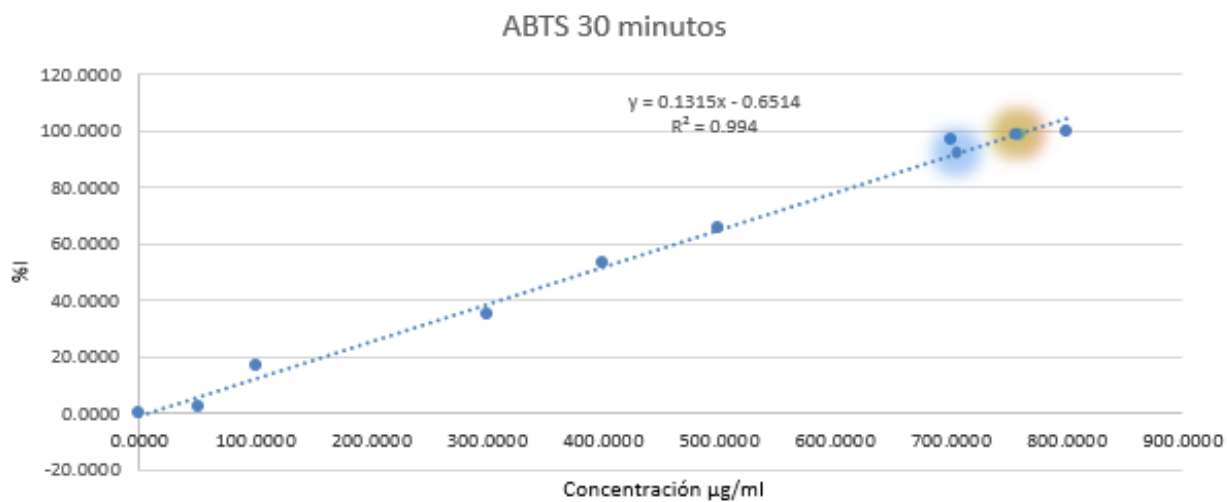


Tabla 9. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación 18 horas donde, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba NH₂ representan el después de la encapsulación

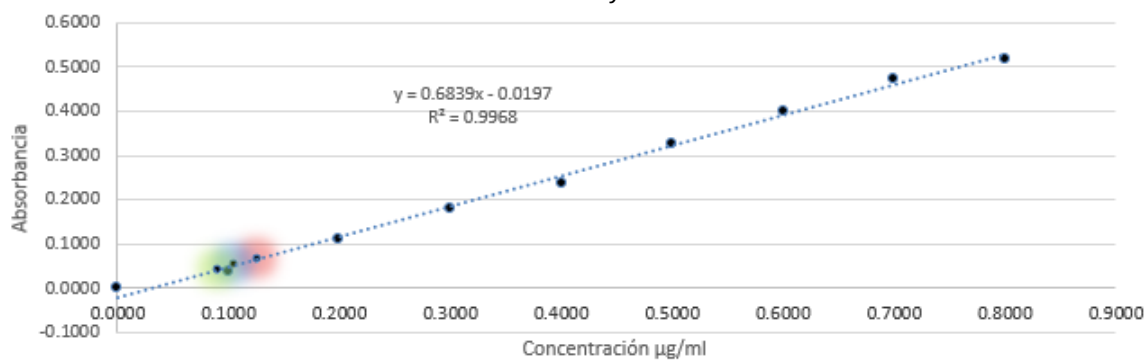
AGITACION MAGNETICA 18 HORAS					
	fenoles (μg/ml)	flavonoides (μg/ml)	taninos (μg/ml)	DPPH (inhibición)	ABTS (inhibición)
Muestra fresca	0.1258	45.1895	0.3730	35.1535	99.2595
Residuo sba	0.1233	44.4183	0.2364	33.6821	92.0532
Residuo sba NH ₂	0.1057	31.6209	0.2835	9.4073	98.7062
Capsulas sba	0.0351	0.0132	-0.000005	16.0612	1.5289
Capsulas sba NH ₂	0.0242	0.0583	0.0001	6.9037	20.9061
% encapsulación sba	98.0127	98.2934	63.3780	95.8144	92.7399
% encapsulación sba NH ₂	84.0223	69.9740	76.0054	26.7606	99.4426

Tabla 10. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en proceso de agitación de 18 horas

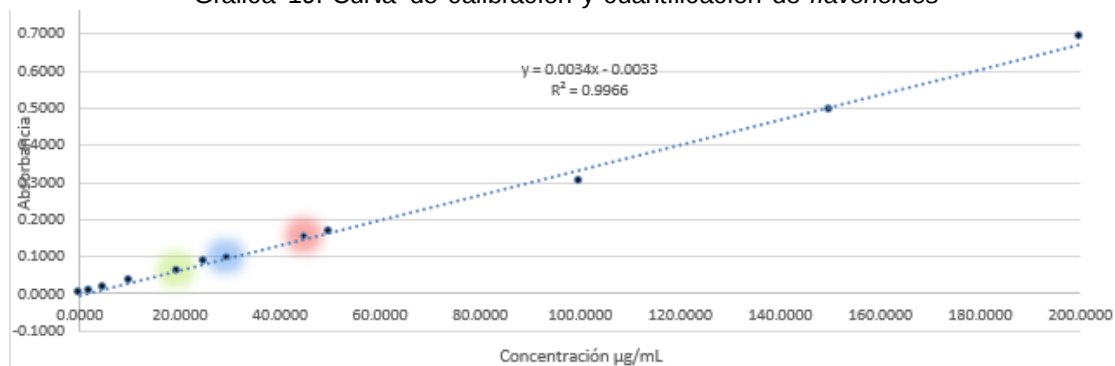
	Sílice mesoporosa	Sílice mesoporosa funcionalizada
Fenoles totales		predominó
flavonoides		predominó
Taninos condensados	predominó	
DPPH		predominó
ABTS	predominó	

VIII.2.1.3 Agitación ultrasónica

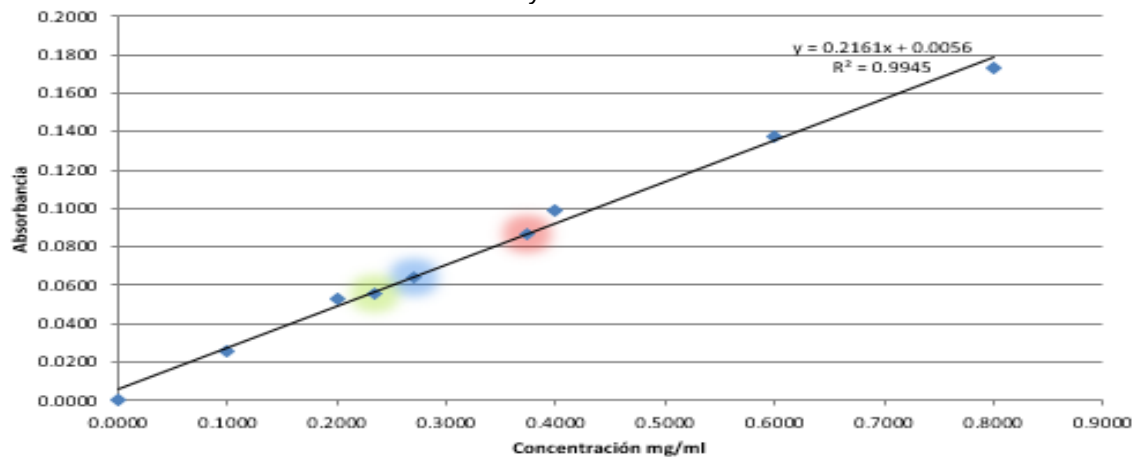
Gráfica 18. Curva de calibración y cuantificación de *fenoles*



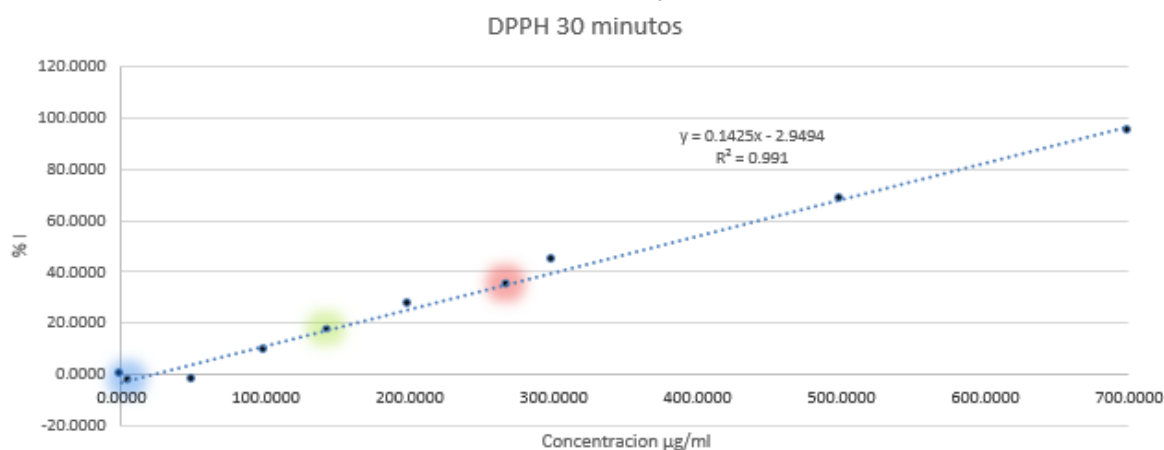
Gráfica 19. Curva de calibración y cuantificación de *flavonoides*



Gráfica 20. Curva de calibración y cuantificación de *taninos condensados*



Gráfica 21. Curva de *determinación de capacidad antioxidante DPPH*



Gráfica 22. Curva de *determinación de capacidad antioxidante ABTS*

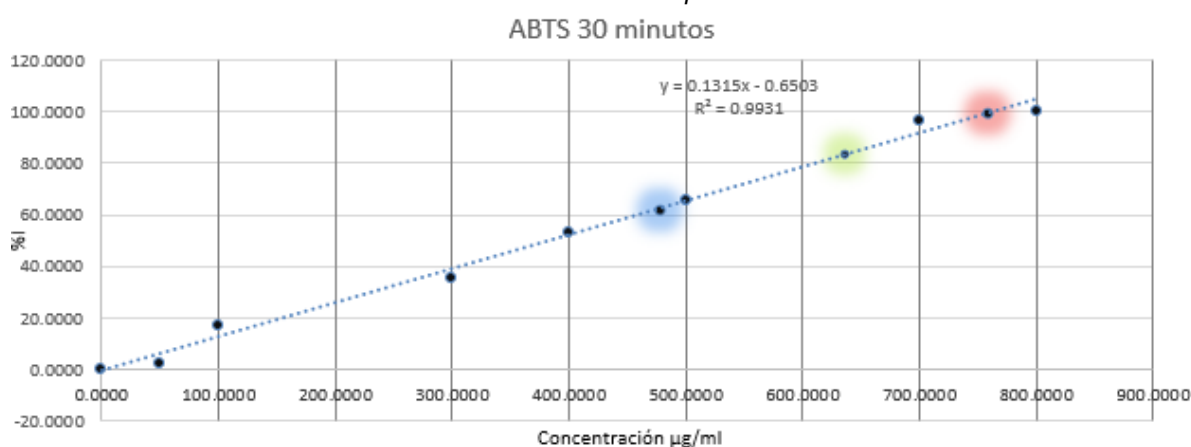


Tabla 11. Datos generales de concentración de metabolitos antes y después de ser encapsulados en el método de agitación ultrasónica, la muestra fresca representa el antes y los residuos sba y residuos sba NH₂ representan el después de la encapsulación

AGITACION ULTRASONICA					
	fenoles ($\mu\text{g/ml}$)	flavonoides ($\mu\text{g/ml}$)	taninos ($\mu\text{g/ml}$)	DPPH (inhibición)	ABTS (inhibición)
Muestra fresca	0.1258	45.1895	0.3730	35.1535	99.2595
Residuo sba	0.1056	29.5818	0.2712	17.3968	62.1299
Residuo sba NH ₂	0.0909	19.2680	0.2333	-2.2702	83.1287
Capsulas sba	0.0251	0.1046	0.0000	-23.2590	-4.5520
Capsulas sba NH ₂	0.0923	0.2372	0.2372	-21.7010	34.0800
% encapsulación sba	83.9428	65.4617	72.7078	49.4881	62.5934
% encapsulación sba NH ₂	72.2576	42.6382	62.5469	-6.4580	83.7489

Tabla 12. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito en el proceso de agitación ultrasonica

	Sílice mesoporosa	Sílice mesoporosa funcionalizada
Fenoles totales		Predominó
flavonoides		Predominó
Taninos condensados		Predominó
DPPH	Predominó	
ABTS	Predominó	

Se estimó que, a causa de la funcionalización y al tipo de proceso de agitación, las nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas presentes en la agitación ultrasónica, hubieran predominado en cantidad y por ende, reducido la actividad antioxidante al mínimo en las soluciones resultantes (tabla 12), debido a la intensidad de las ondas liberadas comparadas con sus respectivas, las de agitación magnética.

En base a la literatura, se estimaba que los reultados, proporcionados por la agitación ultrasónica fueran los siguientes (tabla 13)

Tabla 13. Cuadro comparativo que establece la situación ideal esperada donde se encapsularía más metabolito

	Agitación magnética 4 horas	Agitación magnética 18 horas	Agitación ultrasónica
Fenoles totales			predomino
flavonoides			predomino
Taninos condensados			predomino
DPPH			predomino
ABTS			predomino

Sin embargo, los resultados no se comportaron como se esperaba y los datos obtenidos se muestran en la tabla 14. En la tabla 14 se muestra de manera general, que método fue el más eficiente, en cuestión a una mayor encapsulación y por ende, una menor capacidad antioxidante en la solución restante.

Tabla 14. Cuadro comparativo que establece donde se encapsulo más metabolito, comparando los 3 métodos realizados

	Agitación magnética 4 horas	Agitación magnética 18 horas	Agitación ultrasónica
Fenoles totales	Predomino		
Flavonoides		Predomino	
Taninos condensados			Predomino
DPPH		Predomino	
ABTS		Predomino	

Los valores pudieron variar por varios factores, pero principalmente, se le atribuye a dos aspectos, los cuales son: el tipo de solvente usado y el tipo de agitación.

Los resultados obtenidos generan interrogantes como:

¿Por qué predominaron los taninos condensados en la agitación ultrasónica y por qué no los flavonoides ni compuestos fenólicos?

¿Por qué predominaron los compuestos fenólicos y flavonoides en la agitación magnética y no en la agitación ultrasónica?

El tipo de solvente usado

El solvente usado en las pruebas fue metanol. Esto pudo haber afectado la solubilidad de los taninos y mejorado la de los compuestos fenólicos y flavonoides.

Es bien sabido que, la polaridad de un solvente involucrado depende de la constante dieléctrica ϵ del mismo, la cual afecta o aumenta la capacidad del solvente para solubilizar moléculas. Se ha reportado que, en un rango en la constante dieléctrica ϵ entre 50 y 60, se ha logrado solubilizar una gran cantidad de taninos condensados. Y por otro lado, la constante dieléctrica ϵ del metanol es de 32.7 (Bosso y col., 2016).

Y por otro lado, se ha reportado que el metanol es el solvente más usado para la extracción de algunos metabolitos secundarios, especialmente es un solvente fundamental para la extracción de compuestos fenólicos. Esto es debido a la polaridad presente y la estructura molecular de los compuestos fenólicos, las cuales en conjunto, forman matrices fibrosas polares macromoleculares compatibles (Suhaj y col., 2006).

Esto pudiera ser atribuido por la posible unión del radical hidroxilo presente en el medio metanólico al anillo aromático de los compuestos fenólicos durante las reacciones químicas. Además, la adición del segundo grupo hidroxilo a las posiciones -orto o -para también tiene relevancia porque estos grupos hidroxilo aumentan la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. (Abid, M y col., 2014)

Y para corroborar, en un trabajo realizado, se reportó que usando 3 solventes orgánicos puros, la extracción de los compuestos fenolicos incrementó con el incremento de la constante dielectrica ϵ : 6.02 para el etil acetato, 20.7 para la acetone y 24.7 para el etanol. El metanol, a las mismas condiciones fue más atractivo que el etanol (Bosso y col., 2016).

Debido a esto, se pudiera confirmar que, el solvente pudo haber afectado la solubilidad de los taninos en la muestra de agitación magnética, pero no en la agitación ultrasonica (en el punto B se explicó porque)

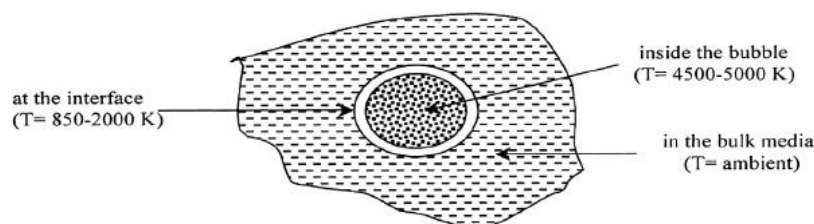
Por éste motivo, se podria afirmar que la agitación magnética de 18 horas fue la que predominó en cuestión a la encapsulación de compuestos fenólicos y flavonoides porque a comparación con la ultrasónica, aparte de que tuvo a su favor al solvente, la agitación no generó tanta inestabilidad por la baja energía involucrada en el proceso y, además, por el tiempo de agitación de 18 horas, lo cual favoreció la solubilidad de los metabolitos.

El tipo de agitación

El proceso ultrasónico funciona de una manera increíble, peculiar e ingeniosa. Se estimó que, debido a esto, pudo haber mejorado la solubilidad y transferencia en este caso la de los taninos; esto es debido a que cuando las ondas que son emitidas por el dispositivo pasan a través del medio líquido, el líquido es comprimido y descomprimido llevando la generación de microburbujas.

Estas microburbujas crecen, oscilan rápidamente y colapsan violentamente. Este colapso de estas microburbujas produce una alta temperatura y presión local. La energía liberada por estas ondas ultrasónicas es convertida en calor y cavitación. Esto lleva a efectos físicos y químicos en el medio líquido (Daryabor y col., 2017).. Un ejemplo de este fenómeno se puede apreciar en la figura 15

Figura 15. Imagen de una burbuja generada por ondas ultrasónicas de alta energía. Dentro de la burbuja, en la interfase y en el medio masivo (Daryabory col., 2017).



Por esta razón, la irradiación con ondas ultrasónicas produce emulsiones más efectivas, comparadas con las ondas que se producen con una agitación mecánica convencional y debido a esto, se promueve una transferencia de masa más eficaz en una fase líquida (Daryabor y col., 2017).

Con esto, se podría asumir que gracias a este comportamiento ultrasónico, los taninos condensados pudieron solubilizarse e difundirse en las nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas y predominar, a pesar del solvente involucrado.

Pero a su vez, pudo haber desestabilizado las estructuras de los compuestos fenólicos y flavonoides, debido a la temperatura interna de las burbujas, alta presión y las vibraciones violentas. Por esta razón, no pudo haber predominado la encapsulación de los fenoles y flavonoides en la agitación ultrasónica.

Se hipotetizó que, debido al tipo de solvente, los compuestos fenólicos y flavonoides estuvieron dispersados en toda la solución uniformemente y los taninos condensados estuvieron aglomerados, creando así estos últimos una pequeña resistencia al paso de las ondas ultrasónicas mientras que los compuestos fenólicos y flavonoides no, creando así una desestabilización en su estructura molecular.

Y en cuestión a la actividad antioxidante, predominó en la agitación magnética (en general). Estos pudo haber sido, como se comentó anteriormente, debido a los cambios bruscos de temperatura dentro de las burbujas generadas, alta presión, a las vibraciones violentas y a la alta liberación de energía involucrada en el proceso.

Obviamente, esto no quiere decir que los metabolitos secundarios se encuentren encapsulados y/o no haya porciones dentro de las nanopartículas de sílice. Pero de lo que si se está seguro es que si, efectivamente hubo disminución en la concentración de estos en las solución restante.

Para determinar, de una manera cualitativa, la presencia de los metabolitos secundarios por toda la superficie de las nanopartículas de sílice mesoporosa, se llevó a cabo un análisis de caracterización por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), esto para identificar las vibraciones de los grupos funcionales característicos de: la sílice mesoporosa funcionalizada, no funcionalizada y de los grupos funcionales de los metabolitos secundarios característicos.

VIII.3 Caracterización cualitativa de los sistemas obtenidos

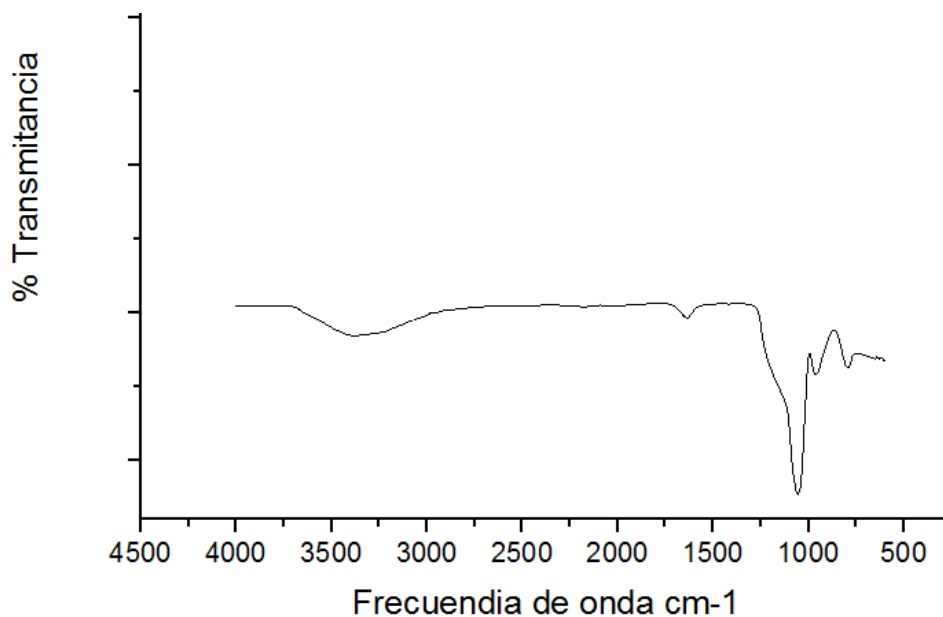
VIII.3.1 Caracterización por espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Para analizar que efectivamente había metabolitos secundarios encapsulados en las nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15, fue hecho un análisis de espectroscopia infrarrojo para determinar las vibraciones de las nanopartículas y de los metabolitos secundarios correspondientes.

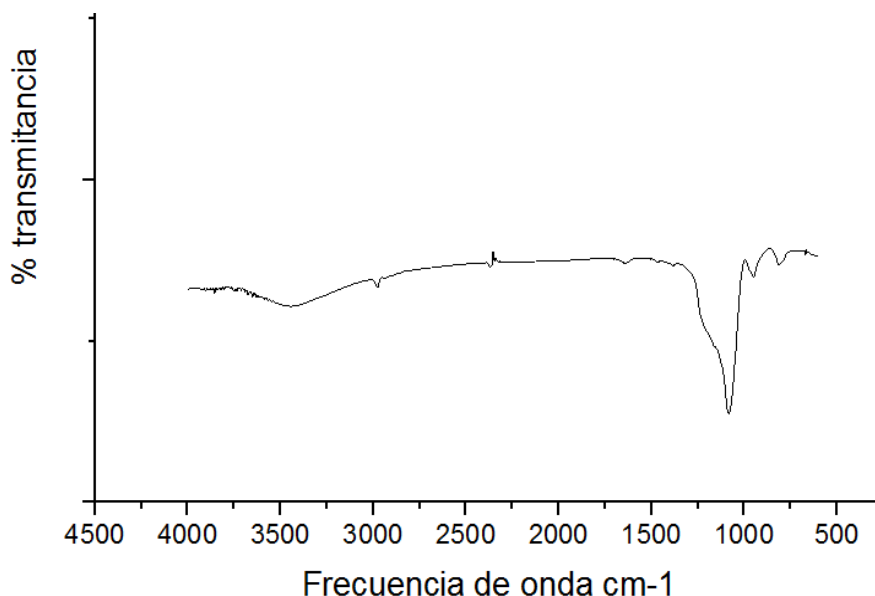
VIII.3.1.1 Caracterización de los blancos

Primeramente, se obtuvo los espectros de las nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15 sin funcionalizar pura y nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizada pura (blancos).

Gráfica 23. Espectro de las nanopartículas de sílice mesoporosa 15 sin funcionalizar blanco



Gráfica 24. Espectro de nanopartículas de sílice mesoporosa 15 funcionalizadas con grupos amino blanco



Todos los datos posteriores estan basados en las gráficas 23 y 24

- Una frecuencia característica presente, es el punto situado aproximadamente en 800 (Bahrami y col., 2014; Sevimli y col., 2012) y 811 (Hernández-Morales y col., 2012), el cual denota vibraciones de estiramiento simétricas de la sílice Si-O-Si.
- Otro frecuencia característica está presente en el punto aproximado 960 (Hernández-Morales y col., 2012; Miah y col., 2017; Sevimli y col., 2012), el cual representa vibraciones de torsión débiles del grupo Si-OH respectivamente.
- Otra frecuencia asociado en el valor aproximado entre 1075 (Hashemikia y col., 2015; Huang y col., 2017) y 1068 (Ziarani y col., 2012), el cual determina la longitud de onda de las vibraciones de estiramiento asimétricas del grupo Si-O-Si, el cual está asociado con la formación de una red de sílice condensada. Este valor sugiere la existencia de la sílice.

- Al igual, en el punto 1635-1632 aproximadamente, se presenta la vibración deformacional de las moléculas de agua absorbidas (Latifi y col., 2017; Miah y col., 2017).
- Otro punto en común en ambas graficas es el punto situado en el rango entre 3440-3392 (Hashemikia y col., 2015; Li y col., 2017; Ziarani y col., 2012), el cual expresa la vibración del agua absorbida y del grupo Si-OH. Cabe destacar que estas bandas están asociadas porque el agua interacciona físicamente con los grupos -OH del Si-OH mediante puentes de hidrogeno.

Ahora, los puntos característicos que diferencian la sílice mesoporosa SBA 15 sin funcionalizar de la sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizada, en decir la gráfica 24 de la 23 son:

- Los puntos localizados en el rango 1494-1405, se puede apreciar que está más definido en la gráfica 24, debido a que este punto expresa la vibración de estiramiento C-N asimétrico, el cual se le atribuye a las vibraciones del compuesto 3-aminopropil trimetóxisilano (APTMS), precursor de los grupos funcionales NH_2 , $(\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2)$ (Latifi y col., 2017; Ziarani y col., 2012),
- Otro punto característico está situado entre el rango 1535-1600, aquí se puede observar las vibraciones asimétricas del enlace N-H del grupo aminopropil anclado a la superficie en la gráfica 24. Donde la banda de absorción indica la deformación del N-H del grupo - NH_2 . Además aquí se puede apreciar que casi la banda se entrelaza con la banda que interpreta el agua absorbida (Crocellà y col., 2017; Hashemikia y col., 2015; Sevimli y col., 2012; Ziarani y col., 2012)
- Otro punto situado está entre en el rango 2870-2980 de la gráficas 24, se puede apreciar la banda de estiramiento del C-H, presente en el grupo aminopropil del 3-aminopropil trimetóxisilano (APTMS) de la gráfica 24. (Bian y col., 2016; Hashemikia y col., 2015; Latifi y col., 2017;

Li y col., 2017) y si la banda es muy pequeña casi insignificante, significa un aumento de -NH_2 (Huang y col., 2017)

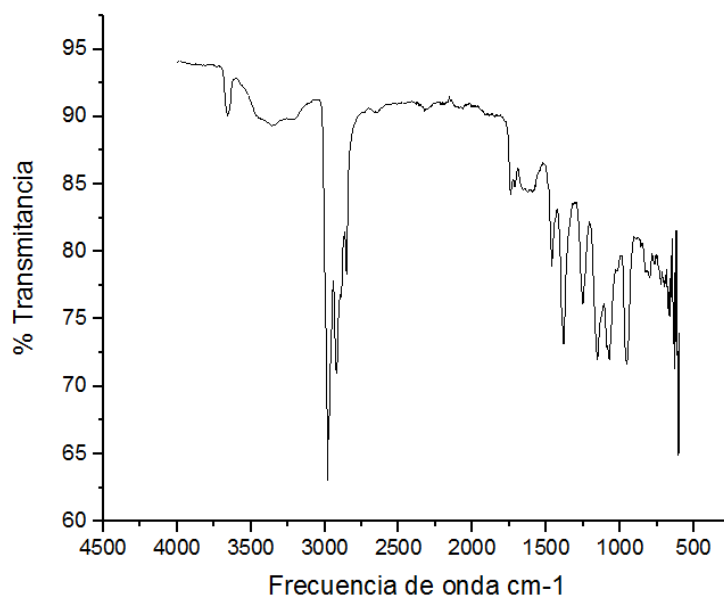
- Otro punto que, el cual está encimado a la molécula Si-OH , aproximadamente entre el de rango 3380-3303 en la gráfica 24 indica la macromolécula de sílice mesoporosa funcionalizada. Indica la banda de estiramiento N-H, la cual denota que hubo vibraciones simétricas del injerto del -NH_2 (Crocellà y col., 2017; Huang y col., 2017; Miah y col., 2017; Sevimli y col., 2012)

Todo lo descrito anteriormente, nos aseguró que efectivamente, se obtuvieron nanopartículas de sílice mesoporosas sin funcionalizar y funcionalizadas con grupos amino puras.

Acontinuación, se muestran las gráficas de la muestra deshidratada.

VIII.3.1.2 Caracterización de la muestra deshidratada

Gráfica 25. Espectro de la muestra de chile pimienta deshidratada



De acuerdo a (Martin y col., 2015), hay varios tipos de metabolitos encontrados en el chile pimienta, tal como: los alcaloides, flavonoides, glucósidos, saponinas, esteroides, taninos, terpenos, compuestos fenólicos; y dentro de cada familia, hay una sub-clasificación estructuralmente bastante compleja. Y para recalcar, de acuerdo a (Latifi y col., 2017; Ziarani y col., 2012) entre otros autores; han expresado que, las bandas pueden ser traslapas o pueden coincidir en ciertas frecuencias.

Debido a la gran variedad y complejidad molecular presente en los metabolitos secundarios de la muestra fresca deshidratada, se procedió a identificar las estructuras moleculares base y grupos funcionales característicos de los metabolitos secundarios (Alu'datt y col., 2017; Derenne y col., 2013; Dias y col., 2016; Martínez-Flórez y col., 2002; Martins y col., 2011; Niño-Medina y col., 2017; Ozdal y col., 2013; Verri y col., 2012; Zhu, F. (2015)

Nomenclatura: H expresa átomos de hidrogeno, C de carbono, X_n la letra X expresa un átomo y el subíndice expresa el número de átomos, N de nitrógeno, O de oxígeno, P de fosforo, R es un radical, -X- expresa enlaces simples al átomo, X= expresa enlaces dobles al átomo, Ar de aromáticos.

Todos los puntos situados posteriormente están basados de acuerdo a la grafica 25.

- En el punto situado, aproximadamente entre 750-790, hay una pequeña frecuencia, la cual pudiera expresar la deformación de un enlace C-H de pirimidinas y purinas, la presencia de grupos $-CH_2-$ de alcanos, las vibraciones en los anillos de moléculas aromáticas monocíclicas y policíclicas como: bencenos, antracenos. fenantreno.
- Otra frecuencia situada entre 800-850, denota compuestos con enlace nitrógeno y oxígeno $-N-O-$, alquenos trisustituídos $R_1R_2C=CHR_3$, deformación del enlace C-H de los aldehídos, compuesto con grupos fosfato $-P-O-C-$, esqueleto de alcanos $-C(CH_2)-$, estiramientos de enlace cis C-O de éteres simétricos alifáticos y epóxidos. También se indica la

presencia de nitrilos $R-O-N=O$ de la forma trans o cis, al igual vibraciones simétricos de éteres cíclicos de 3 carbonos.

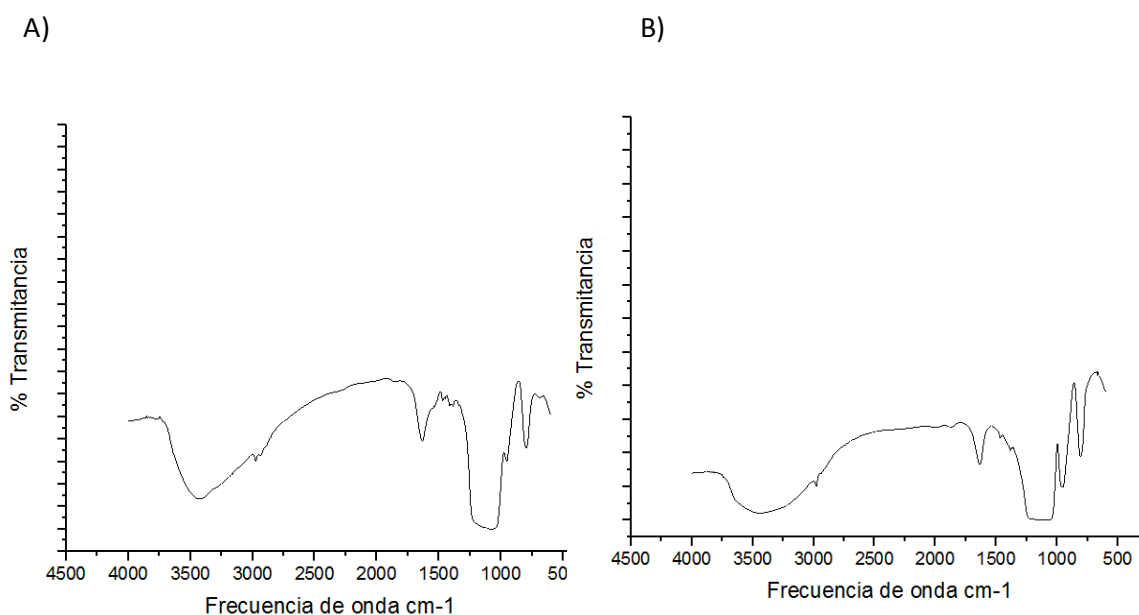
- Otra frecuencia situada entre 940-980, expresa las vibraciones asimétricos éteres y epóxidos cíclicos $-O-CH_2-O$, la deformación del grupo $-OH$ de los ácidos carboxílicos, alquenos disustituídos R_1CH-CH_2 , estiramiento asimétrico de aldehídos, deformación de la estructura de los ciclohexanos y vibraciones asimétricas de éteres aromáticos con 4 carbonos.
- Otra frecuencia situada entre 1050-1080 aproximadamente, expresa la presencia de alcoholes primarios $R-OH$ o alquenos di o tri sustituídos, vibraciones de la deformación de la estructura de los ciclohexanos y vibraciones asimétrico de éteres aromáticos con 5 carbonos al igual, éteres intermedios uniendo grupos fenilos
- Otra frecuencia situada entre 1180-1220, compuestos aromáticos que contienen fósforo $P-O-R$, la presencia de fenoles C_6H_6O , aminas alifáticas $R-NH_2$.
- Otra frecuencia localizada entre 1240-1250, se vuelve a expresar la vibración de fenoles, estiramiento de la unión $C-H$ de los alcanos, éteres y epóxidos aromáticos, la presencia de ácidos carboxílicos $-COOH$, éteres conjugados o alifáticos CH_3-O-R , presencia de ésteres aromáticos y lactanos
- Otra frecuencia situada entre 1375-1480 aproximadamente, puede expresar la presencia de la deformación de los enlaces $C-H$ de los alcanos, la deformación del enlace $R-OH$ de los fenoles y alcoholes, la deformación de las acetonas, las vibraciones simétricas de los ácidos carboxílicos y las vibraciones de los compuestos con fósforo, vibración asimétricas de $-CH_2-$ de ciclohexanos.

- En la frecuencia entre 1625-1730, indica la presencia de piridinas, la presencia de compuestos insaturados que contienen nitrógeno, por ejemplo: oximas, purinas, pirimidinas y quinolinas, compuestos cíclicos alfa y beta insaturados C=N, compuestos con enlaces -N=O, alfa aminoácidos, cetonas de 6 y 7 anillos, amidas -CO-NH-CO- primarias, secundarias y terciarias; alfa y beta aldehídos insaturados, benzopiranos, ácidos carboxílicos aromáticos, alquenos cuaternarios u o-hidroxi-aminos, oxazinas, oxazolinas, oxazolones y azometinas acíclicas. Otro punto característico es la presencia de lactanos largos con anillos cíclicos, los cuales representan compuestos aromáticos policíclicos, imidas cíclicas alfa y beta insaturadas. ésteres aromáticos.
- En la frecuencia, aproximadamente 1875, expresa la presencia de aminoácidos.
- La pequeña frecuencia situada en 1970 aproximadamente, denota la presencia de alquinos y alenos
- En la frecuencia entre 2080-2090, indica las vibraciones de estiramiento de aminoácidos
- En la frecuencia presente en 2260 aproximadamente, indica la presencia de alquinos y alenos, de nitrilos y purinas e isocianatos
- En la frecuencia aproximadamente 2625, se corrobora que hay presencia de aminoácidos primarios y compuestos orgánicos con fósforo.
- En la frecuencia entre 2810-2875, indica la presencia del estiramiento asimétrico de alcanos y de éteres, vibraciones simétricas de las estructuras de los ciclohexanos.
- La frecuencia situada entre 2990-3050 aproximadamente, indica la presencia de moléculas aromáticas monocíclicas y policíclicas como: bencenos, naftalenos, antracenos. fenantreno, entre otros. y la vibración de alcanos alifáticos y de ciclohexanos,

- La frecuencia situada, aproximadamente 3190, se indica las vibraciones de amidas cis, de arenos con grupos OH, aromáticos Ar-OH
- En este punto, aproximadamente 3300, se puede apreciar la presencia de fenoles polimericos, la presencia de amidas, arenos polimericos y alquinos.
- En al frecuencia, aproximadamente 3410, se vuelve apreciar las vibraciones de fenoles polimericos, la presencia de pirroles, aminas primarias y secundarias (Mistry, 2009; Simons, 1978)

VIII.3.1.3 caracterización de los productos resultantes en la agitación magnética 18 horas

Gráfica 26. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación magnética de 18 horas



Un punto importante con respecto a los resultados biológicos obtenidos, hubo una mayor encapsulación o concentración de metabolitos (de compuestos fenólicos y flavonoides, taninos menor pero hubo) en el proceso donde se involucro nanopartículas de sílice funcionalizadas que sus respectivas homólogas no funcionalizadas en el proceso de agitación magnética de 18 horas.

Todos los puntos explicados están explicados en base a la grafica 26 A) y B)

- Una frecuencia situada aproximadamente en 800, expresa vibraciones de estiramiento simétricas de la sílice Si-O-Si, compuestos nitrogeno y oxígeno N-O, alquenos trisustituídos $R_1R_2C=CHR_3$, deformación del enlace C-H en aldehídos, compuesto con fosfato -P-O-C-, esqueleto de alcanos -C(CH₂)-, nitrilos R-O-N=O de la forma trans o cis, al igual vibraciones de éteres cíclicos de 3 carbonos (Bahrami y col., 2014; Hernández-Morales y col., 2012; Mistry, 2009; Sevimli y col., 2012; Simons, 1978).
- Otro punto aproximadamente 960, representa vibraciones de torsión débiles del grupo Si-OH respectivamente, expresa éteres y epóxidos cíclicos -O-CH₂-O-, la deformación del grupo -OH de ácidos carboxílicos, vibraciones de alquenos disustituídos R₁CH-CH₂ y estiramiento asimétrico de aldehídos, deformación de la estructura de los ciclohexanos y vibraciones asimétricas de éteres aromáticos con 4 carbonos. Se puede observar que la frecuencia está mas definida en la espectro B de la Gráfica 23, esto pudiera ser debido a la previa funcionalización de la nanopartícula, la cual atrapo mayor concentración que el espectro A de la misma Gráfica. Cabe destacar que, al estar funcionalizada la nanopartícula, el par electrónico presente en el nitrógeno -NH₂ ya sea del ligando o de las mismas macromoléculas (aminoácidos, compuestos cíclicos o alifáticos con nitrógeno, etc) forman puentes de hidrógeno con las demás moléculas orgánicas formando así, redes macromoléculas. También hay que remarcar los puentes que se generan debido al par electrónico presente en el oxígeno, presente tanto en las capsulas y en las moléculas orgánicas (; Hernández-Morales y col., 2012; Miah y col., 2017; Mistry, 2009; Sevimli y col., 2012; Simons, 1978).
- Se puede apreciar una frecuencia expandida aproximadamente entre 1075-1250, el cual determina las vibraciones de estiramiento asimétricos del grupo Si-O-Si, el cual está asociado con la formación de una red de sílice condensada, sugiriendo así la existencia de la sílice. También

expresa la presencia de compuestos aromaticos que contienen fosforo, la presencia de fenoles ,aminas alifaticas, estiriramiento en la union C-H de alcanos; esteres y epóxidos aromaticos, la presencia de ácidos carboxilicos, eteres conjugados y alifaticos $\text{CH}_3\text{-O-R}$, alcoholes primarios R-OH y alquenos di y tri sustituidos, vibraciones de la deformación de la estructura de los ciclohexanos y vibraciones asimetrico de eteres aromaticos con 5 carbonos, eteres intermedios uniendo fenilos, presencia de esteres aromaticos y lactanos (Hashemikia y col., 2015; Huang y col., 2017; Ziarani y col., 2012; Mistry, 2009; Simons, 1978).

- Otro punto que aparece en ambas espectros, son las pequeñas frecuencias presentes en el rango 1405-1494, estas frecuencias corresponden a enlaces C-N, los cuales aparecían sólo en el espectro de la SBA 15 funcionalizada, procedentes de APTMS, las cuales eran precursores de los grupos -NH_2 , pero, como la muestra está compuesta de materia orgánica, existen varias vibraciones C-N, procedentes de los aminoácidos u otros ciclos con nitrógeno. En el espectro B) de la gráfica 26, está más sobresaliente la frecuencia que su homóloga A), esto pudiera atribuir también a la deformación de alcanos, deformación del grupo -OH de fenoles, la deformación de las acetonas, las vibraciones de los ácidos carboxilicos y las vibraciones de los compuestos con fosforo, vibración asimetricas de $\text{-CH}_2\text{-}$ de ciclohexanos. Ambas tienen los mismos grupos, pero la diferencia radica en la concentración. Esta diferencia puede ser atribuida a la presencia de los grupos -NH_2 , los cuales retuvieron mas materia organica (Latifi y col., 2017; Mistry, 2009; Simons, 1978; Ziarani y col., 2012).
- Otro punto primordial importante, presente en las dos espectros A y B de la Grafica 23, y más sobresaliente que sus respectivos blancos, situado entre el rango 1535-1680, se observar vibraciones asimétricas del enlace N-H, el cual indica la deformación del enlace N-H, del grupo -NH_2 . Esta vibración se le puede atribuir a los grupos -NH_2 anclados por toda la superficie, a los

aminoácidos y a los ciclos y cadenas alifáticas con nitrógeno e hidrógeno. Además se puede apreciar que casi la banda se entrelaza con la banda que interpreta el agua absorbida. También pudiera expresar la presencia de piridinas, la presencia de compuestos insaturados que contienen nitrógeno, por ejemplo: oximas, purinas, pirimidinas y quinolinas, benzopiranos, compuestos ciclicos alfa y beta insaturados con enlaces $-C=N-$; compuestos con enlaces $-N=O$, alfa aminoácidos, cetonas de 6 y 7 anillos; amidas primarias, secundarias y terciarias; alfa y beta aldehidos insaturados; ácidos carboxílicos aromaticos, alquenos cuaternarios u o-hidroxi-aminos benzoatos, oxazinas, oxazolinas, oxazolones y azometinas aciclicas; otro punto característico es la presencia de lactanos largos con anillos ciclicos, los cuales representan compuestos aromaticos policiclicos, imidas ciclicas alfa y beta insaturadas. esterres aromaticos (Crocèllà y col., 2017; Hashemikia y col., 2015; Mistry, B. D. 2009; Sevimli y col., 2012; Simons, W., 1978; Ziarani y col., 2012)

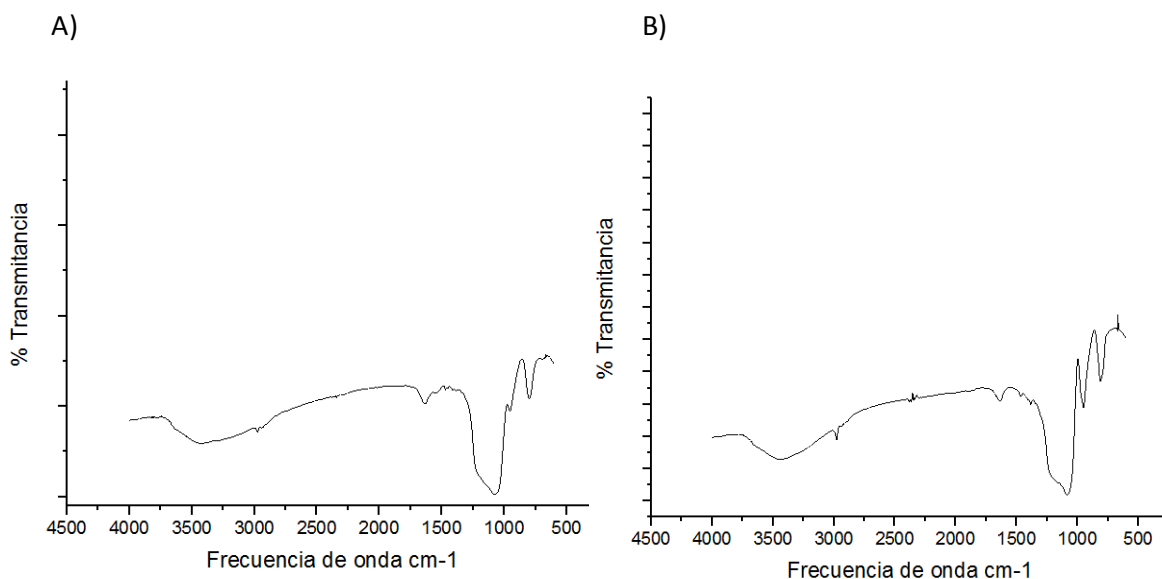
- Otro punto es, la gran expansión de la frecuencia situada, entre 2600-3700 aproximadamente, definitivamente, es un claro ejemplo de un traslapamiento. Está frecuencia es notable es los blanco, a menor frecuencia y mas compactada claro, pero en las presentes espectros A) y B), está mucho mas expandida. Esto pudiera ser un traslape de frecuencias de grupos Si-OH, el cual expresa la vibración del agua absorbida. Cabe destacar que estas bandas están asociadas porque el agua interacciona físicamente con los grupos $-OH$ del Si-OH mediante puentes de hidrogeno. Esta banda se encuentra traslapada con la banda de estiramiento de enlaces N-H, la cual denota que hubo vibraciones simétricas del injerto del $-NH_2$. También muestra el traslape de las vibraciones que corroboran la presencia de aminoácidos primarios y compuestos organicos con fosforo, estiramiento asimétrico de alcanos alifáticos y de eteres, vibraciones de las estructuras de los ciclohexanos, vibraciones de grupos aromaticos monociclicos y policiclicos de bencenos, naftalenos, antracenos.

fenantrenos, entre otros; vibraciones de amidas cis, de arenos con grupos OH, aromaticos Ar-OH, fenoles polimericos, la presencia de amidas, arenos polimericos y alquinos, la presencia de pirroles, aminas primarias y secundarias (Mistry, B. D. 2009; Simons, W. 1978)

Una frecuencia a recalcar, presente en el punto 2870-2980, este punto demuestra la existencia de grupos $-NH_2$. Lo curioso es que, también apareció en el espectro A de la sílice SBA 15 sin funcionalizar, esto se le pudiera atribuir a la presencia de los grupos $-NH_2$ en los aminoácidos presentes en los metabolitos secundarios formando puentes de hidrogeno con los oxígenos presentes en la misma capsula (Crocèlla y col., 2017; Huang y col., 2017; Latifi y col., 2017; Li y col., 2017; Miah y col., 2017; Mistry, B. D. 2009; Sevimli y col., 2012)

VIII.3.1.4 caracterización de los productos resultantes en la agitación magnética 4 horas

Gráfica 27. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación magnética de 4 horas

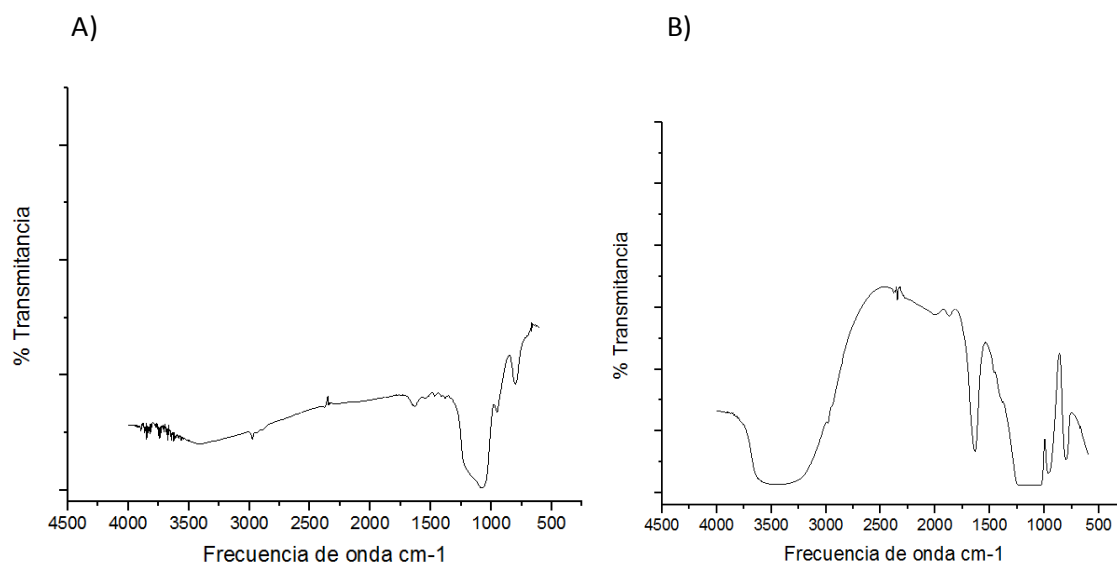


También, al igual que en la agitación magnética de 18 horas con respecto a los resultados biológicos obtenidos, hubo una mayor encapsulación de metabolitos (de compuestos fenólicos y flavonoides, taninos menor pero hubo) en el proceso donde se involucro nanopartículas de sílice funcionalizadas que sus respectivas homólogas no funcionalizadas.

- Los espectros A) y B) de la gráfica 27 tienen mucha similitud con sus respectivos espectros A) y B) de la Gráfica 26 de la agitación de 18 horas en cuestión a la trayectoria de la gráfica. Ambos espectros A) y B), de la Gráfica 27 nos expresa que sí, efectivamente hubo encapsulación de metabolitos secundarios. Comparando ambas gráficas, la frecuencia situada aproximadamente 960, está más definida y prolongada en el espectro B). Esto podría ser atribuida a los grupos funcionales por toda la superficie de las nanopartículas, que, por ende, se obtuvo una mayor concentración de encapsulación.

VIII.3.1.5 caracterización de los productos resultantes en la agitación ultrasónica

Gráfica 28. Espectro de las nanopartículas cargadas: A) SBA 15 y B) SBA 15 funcionalizada con grupos amino en agitación ultrasónica



Este proceso de agitación ultrasonico fue diferente, a comparación con los procesos de agitación magnetica, por que hubo una mayor encapsulación de taninos condensados y menor de compuestos fenolicos y flavonoides (a lo contrario con lo que paso en en el proceso de agitación magnetica) en el proceso donde se involucro nanoparticulas de silice funcionalizadas.

- Se observó que, las gráficas 28 A) y B) siguen teniendo la misma morfología y trayectoria gráfica base que tienen los espectros de agitación 18 y 4 horas. Un dato peculiar se presentó en el espectro B) de la gráfica 28, el cual se puede apreciar que todas las frecuencias están mucho más definidas y notable que su homóloga espectro A), esto pudiera ser explicado, aparte de la funcionalización de las nanoparticulas, por la mayor concentración de taninos condensados encapsulados. Al suceder esto, las vibraciones conjuntas muestran este comportamiento mucho mas exagerado.

Finalmente, para determinar y corroborar de manera mas precisa y objetiva acerca de la presencia de biomoléculas en las nanopartículas, se realizó otra técnica analitica denominada analisis termogavimétrico (TGA) para saber sí efectivamente, las nanopartículas funcionalizadas encapsularón o retuvieron mas biomoleculas que las nanopartículas no funcionalizadas

VIII.3.2 Caracterización por análisis termogravimétrico (TGA)

Como se puede observar en las graficas 29 y 30, hubo una pérdida significativa de peso, la cual empieza inmediatamente con el incremento de la temperatura. Comparada con el 9.2% de peso perdido de la SBA 15 de la grafica 29 aproximadamente, la grafica 30 SBA 15 -NH₂ presentó una pérdida de peso mucho mayor, aproximadamente de 17%.

El gran peso perdido de la SBA 15 -NH₂ (grafica 30), con respecto a la SBA 15 (grafica 29) significa la pérdida de los grupos amino anclados en la SBA 15. Ambas muestras, SBA 15 y SBA 15 -NH₂ muestran curvas de inflexión en 45°C y 250 °C respectivamente. Esto quiere decir que tanto la SBA 15 y la SBA -NH₂ tuvieron una deshidratación y una deshidroxilación, componentes estructurales presentes en la sílice mesoporosa. Adicionalmente, la muestra de la SBA 15 -NH₂ presentó puntos de inflexión aproximadamente en los 298 °C y 317 °C, los cuales están relacionados a la descomposición de los grupos amino y etilenos. Así, los resultados de los análisis termogravimétricos confirmaron la presencia de grupos funcionales por toda la superficie de la SBA 15. Estos grupos tienen una alta estabilidad térmica (sobre los 250 °C), sugiriendo que la muestra SBA 15 presenta efectos sobre las especies ancladas superficialmente sobre sí misma (Hernandez-morales y col., 2012)

En la grafica 31, que exhibe la muestra biológica, se puede apreciar una pérdida de peso demasiado amplia, aproximadamente de 71%. Hay varios puntos de inflexión, los más definidos estuvieron situados en: 25, 72, 110, 150, 190, 325 y 397 °C (también se puede apreciar una frecuencia amplia entre 30 y 110 °C) respectivamente. Esto quiere decir que, la gran variedad y complejidad biomolecular presente en la muestra, de acuerdo a su estabilidad molecular, tamaño y grupos funcionales, presentaron diferentes valores de temperaturas de descomposición. También se puede apreciar que, los valores de la temperatura de descomposición de deshidratación, deshidroxilación, de la pérdida de grupos amino y etileno presentes en la SBA 15 y SBA 15 -NH₂ se translanan con las de las biomoléculas.

En la grafica 32, que exhibe las nanoparticulas SBA 15 con biomoleculas del proceso de agitación magnética, se presenta una perdida de peso considerable, la cual es de 21% aproximadamente. Esto quiere decir que, a pesar de no estar funcionalizadas la SBA 15, fue capaz de encapsular

Pero su similar de la grafica 32, la grafica 33, que exhibe las nanoparticulas SBA 15 funcionalizada y con biomoléculas encapsuladas del proceso de agitación magnética, presentó algo inesperado, una menor encapsulación, alrededor del 15%. Aquí surgen dos hipótesis:

- 1) Teóricamente, se podría asumir que no se encapsuló nada por qué el peso de los grupos amino y etilenos calcinados anclados a la SBA 15 fue de 17% aproximadamente. Pero se sabe que, de acuerdo a los datos obtenidos por FTIR, esta hipótesis queda descartada por qué si hubo encapsulación.
- 2) El porcentaje de peso calcinado de los grupos amino y etilenos anclados a la SBA 15 fue de 17%, este valor es relativo, no exacto. La muestra SBA 15 -NH₂ pudo haber tenido una menor cantidad de grupos aminos anclados a la superficie, y por lo tanto, haber tenido un menor porcentaje de peso calcinado y haber encapsulado una pequeña fracción de biomoléculas.

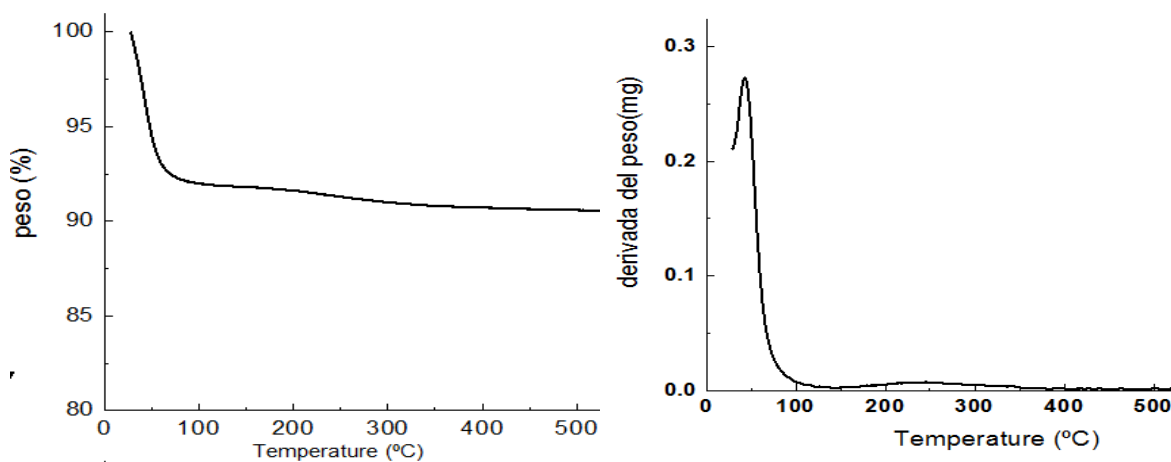
La grafica 34 presenta datos interesantes, los cuales son pertenecientes a las nanoparticulas SBA 15 con biomoleculas del proceso de agitación ultrasónica. Estos denotan que hubo un porcentaje de peso de 22%, esto quiere decir que ciertamente, hubo calcinación de biomoléculas encapsuladas.

Pero la grafica 35, perteneciente a las nanoparticulas SBA 15 funcionalizadas y con biomoleculas del proceso de agitación ultrasónica, indica que se calcinó un 18% del peso, esto quiere decir que se encapsulo una menor concentración, comparandola con su similar grafica 34. Al igual y como pasó en la agitación magnética, se asume que si se encapsularon biomoléculas pero en menor cantidad por los análisis FTIR.

De acuerdo a los datos obtenidos, se confirma que las nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15 sin funcionalizar actuaron mejor que las nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15 funcionalizadas. Esto es debido a que los grupos funcionales se sobreacumularon en los contornos de los poros de la SBA 15, de acuerdo a los datos obtenidos por las isothermas de absorción-desorción (la tabla 5) dando como resultado tamaño y volumen de poro menores que los de la SBA 15 sin funcionalizar.

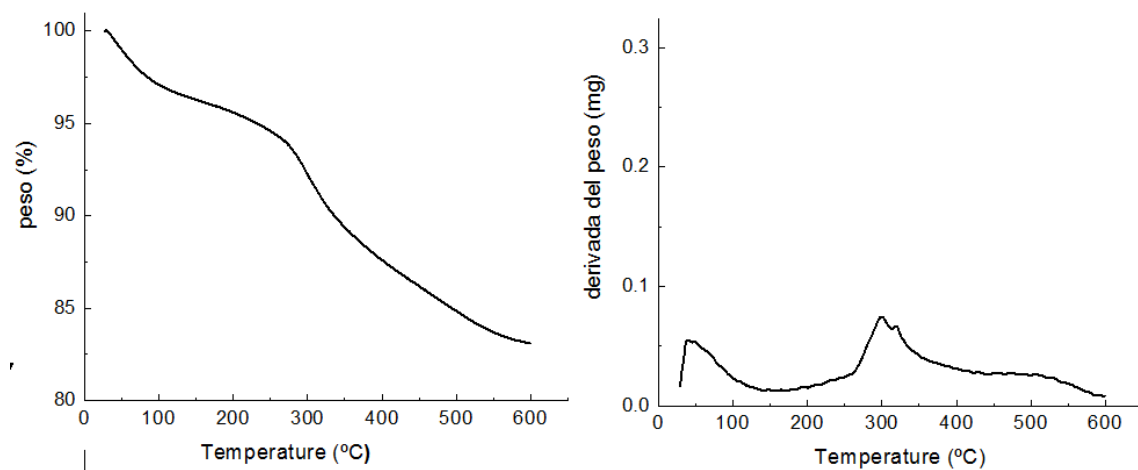
VIII.3.2.1 SBA 15 sin funcionalizar blanco

Gráfica 29 A) TG y B) DP de la SBA 15 sin funcionalizar



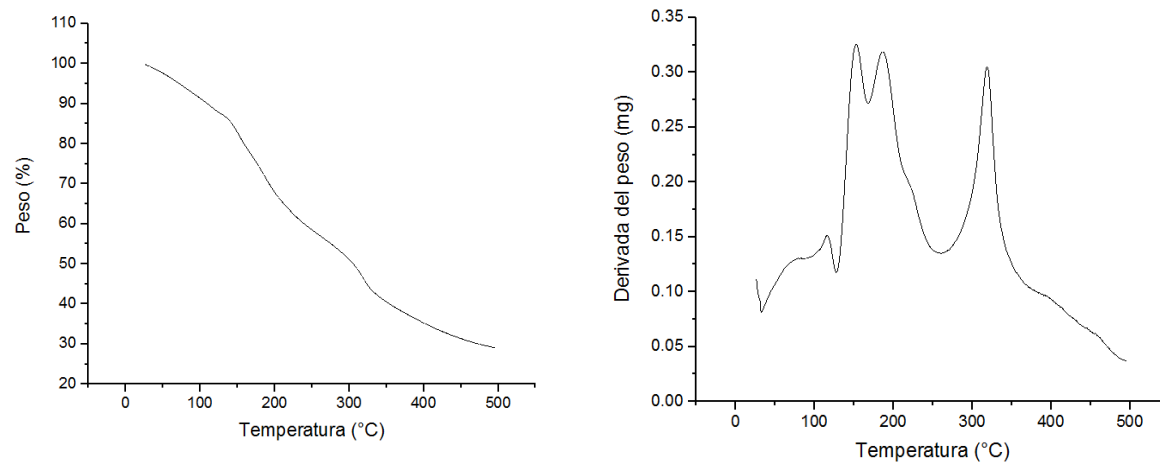
VIII.3.2.2 SBA 15 funcionalizada con grupos amino $-NH_2$ blanco

Gráfica 30 A) TG y B) DP de la SBA 15 funcionalizada con grupos amino



VIII.3.2.3 Muestra biológica deshidrata blanco

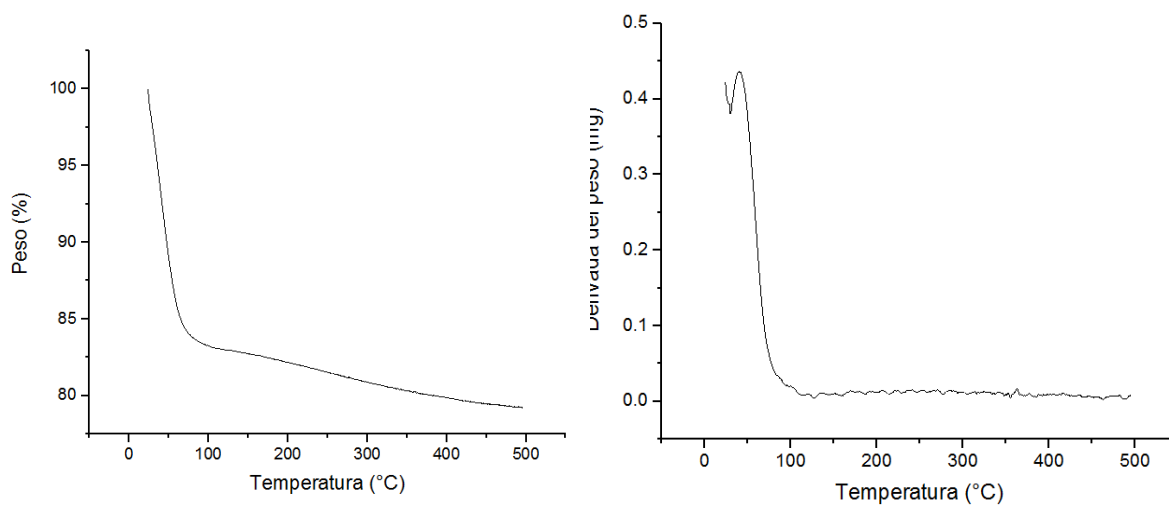
Gráfica 31 A) TG y B) DP de la muestra fresca



VIII.3.2.4 Muestra del proceso de agitación magnética (agitación 4 horas)

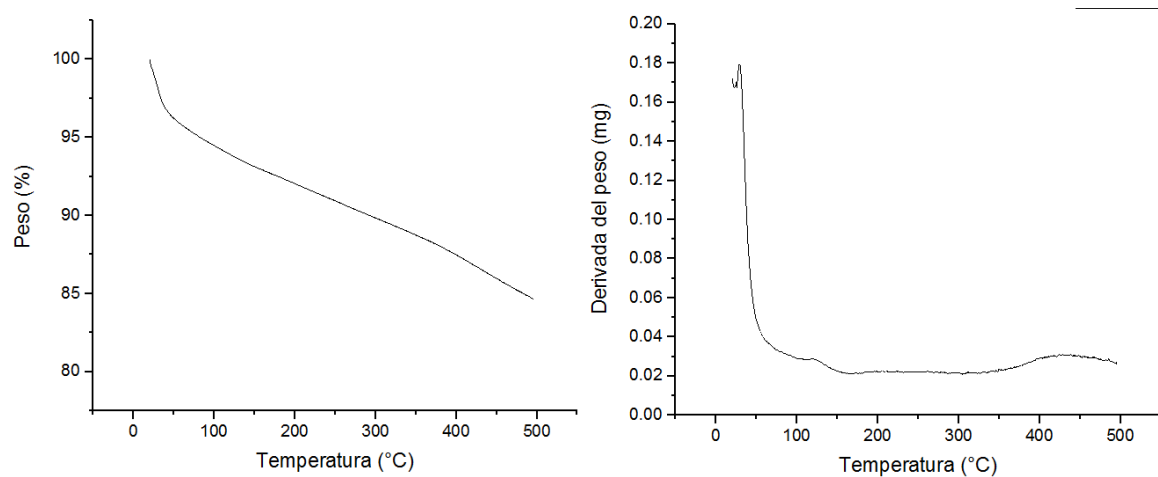
SBA 15

Gráfica 32 A) TG y B) DP de la muestra agitación magnética SBA 15 sin funcionalizar (agitación 4 horas)



SBA 15-NH₂

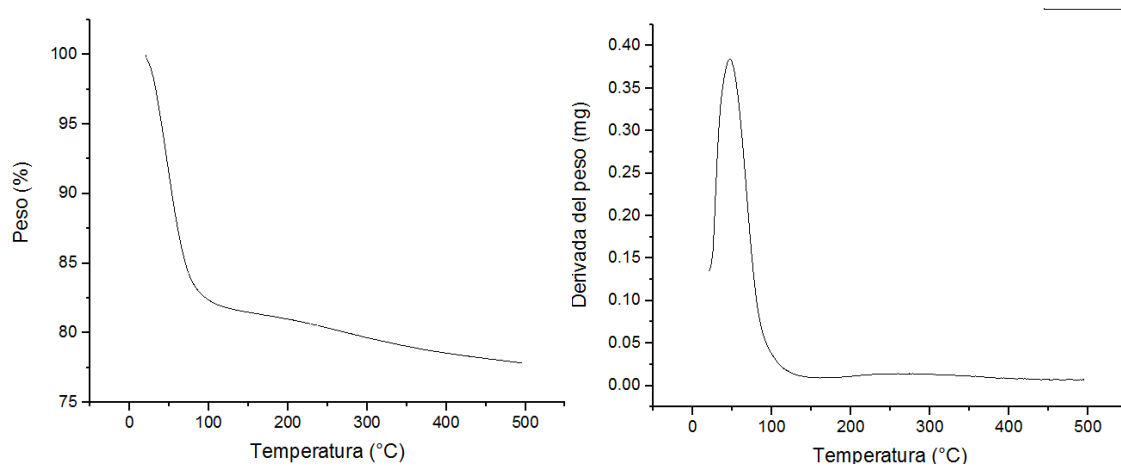
Gráfica 33 A) TG y B) DP de la muestra agitación magnética SBA 15 funcionalizada (agitación 4 horas)



VIII.3.2.5 Muestra del proceso de agitación ultrasónica

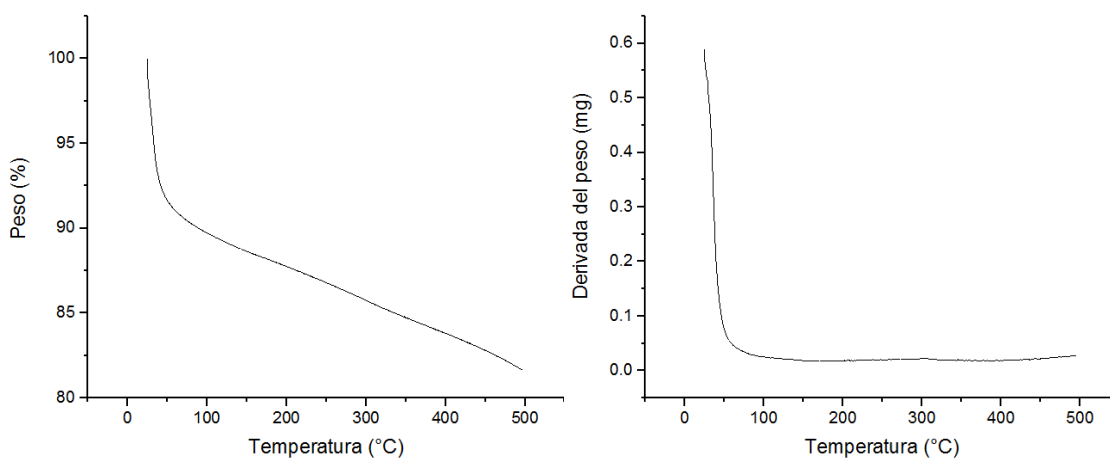
SBA 15

Gráfica 34 A) TG y B) DP de la muestra agitación ultrasónica SBA 15 funcionalizada



SBA 15-NH₂

Gráfica 35 A) TG y B) DP de la muestra agitación ultrasónica SBA 15 funcionalizada



IX.CONCLUSIONES

Todas las técnicas cualitativas y cuantitativas realizadas para el análisis de las nanopartículas puras, demostrarán que efectivamente se obtubieron nanopartículas de sílice mesoporosa sin funcionalizar y funcionalizadas. Y, para determinar de manera visual lo sintetizado, se corroboró mediante las espectroscopias HRTEM y SEM realizadas

Al igual, se determinó que el tipo de agitación, tiempo y tipo de solvente influye en el proceso de encapsulación. Para corroborar la encapsulación de metabolitos secundarios, se realizaron análisis FTIR

Pero, los datos obtenidos por las isothermas de absorción-desorción y por los análisis termogavimetricos, mostrarón resultados totalmente inesperados. Estos resultados demostrarón que las nanopartículas SBA 15 sin funcionalizar encapsularón o retuvieron mas biomoléculas que sus similares funcionalizadas SBA 15 –NH₂

Finalmente, las nanopartículas de sílice mesoporosa SBA 15, podrían ser útiles para transportar activos a ciertas áreas del cuerpo, no solo nutraceuticos, sino también farmacéuticos protegiendolas así de ambientes: ácidos o alcalinos, enzimáticos y ambientes relativamente térmicos, llevando así la mayor cantidad posible de activo al torrente sanguíneo (biodisponibilidad) con el fin de llevarlo a un sitio específico del cuerpo, difícil de intervenir quirúrgicamente, ya sea un nutraceuticos o un fármaco para prevenir, tratar o curar una enfermedad particular.

X. REFERENCIAS

- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S., & Zeng, X. (2014). Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 93-97.
- Akpan, U. G., & Hameed, B. H. (2010). The advancements in sol–gel method of doped-TiO₂ photocatalysts. *Applied Catalysis A: General*, 375(1), 1-11.
- Alma A. Vasquez Flores, Emilio Alvares Parrilla, Jose Alberto Diaz, Abraham Wall Mediano y Laura A. de la Rosa. (2012). Hydrolyzable and condensed: chemistry Tannins, andantages and disvantages of their intake. 85-86.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Al-Mahasneh, M. A., Almajwal, A., Gammoh, S., & Alli, I. (2017). A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food chemistry*, 218, 99-106.
- Arora, D., & Jaglan, S. (2016). Nanocarriers based delivery of nutraceuticals for cancer prevention and treatment: A review of recent research developments. *Trends in Food Science & Technology*, 54, 114-126.
- Bian, Z., Meng, X., Tao, M., Lv, Y., & Xin, Z. (2016). Uniform Ni particles on amino-functionalized SBA-16 with excellent activity and stability for syngas methanation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 417, 184-191.
- Bahrami, Z., Badiei, A., & Atyabi, F. (2014). Surface functionalization of SBA-15 nanorods for anticancer drug delivery. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(7), 1296-1303.
- Benita, S. (Ed.). (2005). *Microencapsulation: methods and industrial applications*. CRC Press.

- Bernal, J., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2011). Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(4), 758-774.
- Bitar, A., Ahmad, N. M., Fessi, H., & Elaissari, A. (2012). Silica-based nanoparticles for biomedical applications. *Drug discovery today*, 17(19), 1147-1154.
- Bosland, P. W., & DeWitt, D. (2009). *The complete chile pepper book: A gardener's guide to choosing, growing, preserving, and cooking*. Timber Press.
- Bosso, A., Guaita, M., & Petrozziello, M. (2016). Influence of solvents on the composition of condensed tannins in grape pomace seed extracts. *Food chemistry*, 207, 162-169.
- Brett Oliveira Ana Maria, Ghica Mariana-Emilia. Universidade de Coimbra, Portugal. Electrochemical Oxidation of Quercetin. 2003. *Electroanalysis* 2003, 15, No. 22. 1745-1750.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30
- Burda, S., & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2774-2779.
- Casasús, R., Climent, E., Marcos, M. D., Martínez-Máñez, R., Sancenón, F., Soto, J., & Ruiz, E. (2008). Dual aperture control on pH-and anion-driven supramolecular nanoscopic hybrid gate-like ensembles. *Journal of the American Chemical Society*, 130(6), 1903-1917.
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2002). Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) §. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975-6980.

- Céspedes Miranda Ela, Rodríguez Capote Karina, Llópiz Janer Niurka y Niurys Cruz Martí, 2000. Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed*; 19(3):186-90.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.
- Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L. W., Gutiérrez-Pacheco, L. C., Contreras-Martín, F., González-Estrada, T., & Peraza-Sánchez, S. R. (2007). Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 104(4), 1755-1760.
- Coradini, K., Lima, F. O., Oliveira, C. M., Chaves, P. S., Athayde, M. L., Carvalho, L. M., & Beck, R. C. R. (2014). Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their in vitro antioxidant effects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(1), 178-185.
- Crocellà, V., Tabanelli, T., Vitillo, J. G., Costenaro, D., Bisio, C., Cavani, F., & Bordiga, S. (2017). A multi-technique approach to disclose the reaction mechanism of dimethyl carbonate synthesis over amino-modified SBA-15 catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 211, 323-336.
- Daryabor, M., Ahmadi, A., & Zilouei, H. (2017). Solvent extraction of cadmium and zinc from sulphate solutions: Comparison of mechanical agitation and ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 931-937.

- Derenne, A., Van Hemelryck, V., Lamoral-Theys, D., Kiss, R., & Goormaghtigh, E. (2013). FTIR spectroscopy: A new valuable tool to classify the effects of polyphenolic compounds on cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(1), 46-56.
- Dias, M. I., Sousa, M. J., Alves, R. C., & Ferreira, I. C. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and Products*, 82, 9-22.
- El-Naggar, M. E., El-Rafie, M. H., El-Sheikh, M. A., El-Feky, G. S., & Hebeish, A. (2015). Synthesis, characterization, release kinetics and toxicity profile of drug-loaded starch nano-particles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 718-729.
- Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and Chemopreventive Effect of Polysaccharides from Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on Azoxymethane-Induced Colon Cancer. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 56(18): 8737-8744.
- Fitz Patrick, J. (2014). Drug Encapsulation for Patient-Centric Dosing. *Pharmaceutical Technology*, 38(4), 28-32.
- Figuerola, F., Muñoz, O., & Estévez, A. M. (2008). La linaza como fuente de compuestos bioactivos para la elaboración de alimentos. *Agro sur*, 36(2), 49-58.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.

- Flodström, K., & Alfredsson, V. (2003). Influence of the block length of triblock copolymers on the formation of mesoporous silica. *Microporous and mesoporous Materials*, 59(2), 167-176.
- Flodström, K., Alfredsson, V., & Källrot, N. (2003). Formation of a New Ia 3 d Cubic Meso-Structured Silica via Triblock Copolymer-Assisted Synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 125(15), 4402-4403.
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- Hashemikia, S., Hemmatinejad, N., Ahmadi, E., & Montazer, M. (2015). Optimization of tetracycline hydrochloride adsorption on amino modified SBA-15 using response surface methodology. *Journal of colloid and interface science*, 443, 105-114.
- Hernández-Morales V., R. Nava, Y.J. Acosta-Silva, S.A. Macías-Sánchez, J.J. Pérez-Bueno, B. Pawelec. 2012. Adsorption of lead (II) on SBA-15 mesoporous molecular sieve functionalized with –NH₂ groups. *Microporous and Mesoporous Materials* 160 (2012) 133–142.
- <http://www.uacj.mx/IIT/CICTA/Documents/Quimicos/metanol.pdf>
- Huang, L., Liu, M., Mao, L., Xu, D., Wan, Q., Zeng, G., ... & Wei, Y. (2017). Preparation and controlled drug delivery applications of mesoporous silica polymer nanocomposites through the visible light induced surface-initiated ATRP. *Applied Surface Science*, 412, 571-577.
- Huang, G. Q., Liu, L. N., Han, X. N., & Xiao, J. X. (2017). Intestine-targeted delivery potency of the O-carboxymethyl chitosan–gum Arabic coacervate: Effects of coacervation acidity and possible mechanism. *Materials Science and Engineering: C*.

- Huirache-Acuña, R., Pawelec, B., Rivera-Muñoz, E., Nava, R., Espino, J., & Fierro, J. L. G. (2009). Comparison of the morphology and HDS activity of ternary Co-Mo-W catalysts supported on P-modified SBA-15 and SBA-16 substrates. *Applied Catalysis B: Environmental*, 92(1), 168-184.
- Jiménez-García, S. N., Vázquez-Cruz, M. A., Guevara-González, R. G., Torres-Pacheco, I., Cruz-Hernández, A., & Feregrino-Pérez, A. A. (2013). Current Approaches for Enhanced Expression of Secondary Metabolites as Bioactive Compounds in Plants for Agronomic and Human Health Purposes—a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(2), 67-78.
- Jiménez, Y. C., Valme García-Moreno, M., Igartuburu, J. M., & Barroso, C. G. (2014). Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chemistry*.
- Joshi, V., & Jander, G. (2009). Arabidopsis methionine γ -lyase is regulated according to isoleucine biosynthesis needs but plays a subordinate role to threonine deaminase. *Plant physiology*, 151(1), 367-378.
- Joye, I. J., Davidov-Pardo, G., Ludescher, R. D., & McClements, D. J. (2015). Fluorescence quenching study of resveratrol binding to zein and gliadin: Towards a more rational approach to resveratrol encapsulation using water-insoluble proteins. *Food chemistry*, 185, 261-267.
- Knopp, D., Tang, D., & Niessner, R. (2009). Review: bioanalytical applications of biomolecule-functionalized nanometer-sized doped silica particles. *Analytica Chimica Acta*, 647(1), 14-30.
- Kothari, S. L., Joshi, A., Kachhwaha, S., & Ochoa-Alejo, N. (2010). Chilli peppers—a review on tissue culture and transgenesis. *Biotechnology advances*, 28(1), 35-48.

- Khider, M., Elbanna, K., Mahmoud, A., & Owayss, A. A. (2013). Egyptian honeybee pollen as antimicrobial, antioxidant agents, and dietary food supplements. *Food Science and Biotechnology*, 22(5), 1-9.
- Lacatusu, I., Badea, N., Nita, R., Murariu, A., Miculescu, F., Iosub, I., & Meghea, A. (2010). Encapsulation of fluorescence vegetable extracts within a templated sol–gel matrix. *Optical Materials*, 32(6), 711-718.
- Lachheb, H., Ahmed, O., Houas, A., & Nogier, J. P. (2011). Photocatalytic activity of TiO₂–SBA-15 under UV and visible light. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 226(1), 1-8.
- Latifi, L., Sohrabnezhad, S., & Hadavi, M. (2017). Mesoporous silica as a support for poorly soluble drug: Influence of pH and amino group on the drug release. *Microporous and Mesoporous Materials*, 250, 148-157.
- Lee, C., & Yoon, J. (2008). UV direct photolysis of 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) in aqueous solution: Kinetics and mechanism. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 197(2), 232-238.
- Li, G., Wang, B., Sun, Q., Xu, W., & Han, Y. (2017). Adsorption of lead ion on amino-functionalized fly-ash-based SBA-15 mesoporous molecular sieves prepared via two-step hydrothermal method. *Microporous and Mesoporous Materials*
- Li, L., An, X., & Yan, X. (2015). Folate-polydiacetylene-liposome for tumor targeted drug delivery and fluorescent tracing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 134, 235-239.
- Luan, Z., Maes, E. M., Van der Heide, P. A., Zhao, D., Czernuszewicz, R. S., & Kevan, L. (1999). Incorporation of titanium into mesoporous silica molecular sieve SBA-15. *Chemistry of Materials*, 11(12), 3680-3686.

- Magalhães, L. M., Barreiros, L., Reis, S., & Segundo, M. A. (2014). Kinetic matching approach applied to ABTS assay for high-throughput determination of total antioxidant capacity of food products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(2), 187-194.
- Magiera, S., Baranowska, I., & Lautenszleger, A. (2014). UHPLC-UV method for the determination of flavonoids in dietary supplements and for evaluation of their antioxidant activities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mamaeva, V., Sahlgren, C., & Lindén, M. (2013). Mesoporous silica nanoparticles in medicine—Recent advances. *Advanced drug delivery reviews*, 65(5), 689-702.
- Martin-Puzon, J. J. R., & Rivera, W. L. (2015). Free-radical scavenging activity and bioactive secondary metabolites from various extracts of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.(Molluginaceae) roots, stems and leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(9), 711-715.
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365-373.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*, 17(6), 271-278.
- McClements, D. J. (2015). Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems. *Advances in colloid and interface science*, 219, 27-53.

- Miah, A. T., Bharadwaj, S. K., & Saikia, P. (2017). Surfactant free synthesis of gold nanoparticles within meso-channels of non-functionalized SBA-15 for its promising catalytic activity. *Powder Technology*, 315, 147-156.
- Mistry, B. D. (2009). A handbook of spectroscopic data. In *Chemistry (UV, IR, PMR, CNMR and Mass Spectroscopy)*. Oxford Book Company.
- Musa, K. H., Abdullah, A., Kuswandi, B., & Hidayat, M. A. (2013). A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food chemistry*, 141(4), 4102-4106.
- Natella, F., Belelli, F., Ramberti, A., & Scaccini, C. (2010). Microwave and traditional cooking methods: Effect of cooking on antioxidant capacity and phenolic compounds content of seven vegetables. *Journal of food biochemistry*, 34(4), 796-810.
- Nava, R., Ortega, R. A., Alonso, G., Ornelas, C., Pawelec, B., & Fierro, J. L. G. (2007). CoMo/Ti-SBA-15 catalysts for dibenzothiophene desulfurization. *Catalysis Today*, 127(1), 70-84.
- Nava, R., Pawelec, B., Castaño, P., Álvarez-Galván, M. C., Loricera, C. V., & Fierro, J. L. G. (2009). Upgrading of bio-liquids on different mesoporous silica-supported CoMo catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 92(1), 154-167.
- Nday, C. M., Halevas, E., Jackson, G. E., & Salifoglou, A. (2015). Quercetin encapsulation in modified silica nanoparticles: potential use against Cu (II)-induced oxidative stress in neurodegeneration. *Journal of inorganic biochemistry*, 145, 51-64.
- Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4669–4674.

- Niño-Medina, G., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, M. D., & Heredia, J. B. (2017). Structure and content of phenolics in eggplant (*Solanum melongena*)-a review. *South African Journal of Botany*, *111*, 161-169.
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, *16*(3), 2191-2217.
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *85*, 935–942
- Ozdal, T., Capanoglu, E., & Altay, F. (2013). A review on protein–phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, *51*(2), 954-970.
- Peluso, I., & Palmery, M. (2015). Flavonoids at the pharma-nutrition interface: Is a therapeutic index in demand?. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *71*, 102-107.
- Pinto Reis, C., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *2*(1), 8-21.
- Pugliese, A., Loizzo, M. R., Tundis, R., O'Callaghan, Y., Galvin, K., Menichini, F., & O'Brien, N. (2013). The effect of domestic processing on the content and bioaccessibility of carotenoids from chili peppers (< i> Capsicum</i> species). *Food chemistry*, *141*(3), 2606-2613.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9), 1231-1237.

- Romo-Hualde, A., Yetano-Cunchillos, A. I., González-Ferrero, C., Sáiz-Abajo, M. J., & González-Navarro, C. J. (2012). Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products. *Food Chemistry*, 133(3), 1045-1049.
- Ruiz-Rico, M., Daubenschütz, H., Pérez-Esteve, É., Marcos, M. D., Amorós, P., Martínez-Máñez, R., & Barat, J. M. (2016). Protective effect of mesoporous silica particles on encapsulated folates. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 105, 9-17.
- Sevimli, F., & Yilmaz, A. (2012). Surface functionalization of SBA-15 particles for amoxicillin delivery. *Microporous and Mesoporous Materials*, 158, 281-291.
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3).
- Sezen, S. M., Yazar, A., Daşgan, Y., Yucel, S., Akyıldız, A., Tekin, S., & Akhoundnejad, Y. (2014). Evaluation of crop water stress index (CWSI) for red pepper with drip and furrow irrigation under varying irrigation regimes. *Agricultural Water Management*, 143, 59-70.
- Singh, L. P., Bhattacharyya, S. K., Kumar, R., Mishra, G., Sharma, U., Singh, G., & Ahalawat, S. (2014). Sol-Gel processing of silica nanoparticles and their applications. *Advances in colloid and interface science*, 214, 17-37.
- Sing, K. S. (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). *Pure and applied chemistry*, 57(4), 603-619.
- Simons, W. W. (1978). *Sadtler handbook of infrared spectra*. Sadtler research laboratories.

- Song, N., & Yang, Y. W. (2015). Molecular and supramolecular switches on mesoporous silica nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 44(11), 3474-3504.
- Stucky, G. D., Monnier, A., Schüth, F., Huo, Q., Margolese, D., Kumar, D., ... & Chmelka, B. F. (1994). Molecular and atomic arrays in nano-and mesoporous materials synthesis. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 240(1), 187-200.
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food composition and Analysis*, 19(6), 531-537.
- Tamuly, C., Saikia, B., Hazarika, M., Bora, J., Bordoloi, M. J., & Sahu, O. P. (2013). Correlation Between Phenolic, Flavonoid, and Mineral Contents With Antioxidant Activity of Underutilized Vegetables. *International Journal of Vegetable Science*, 19(1), 34-44.
- Testai, L. (2015). Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. *Life sciences*.
- TOPALOVIĆ, A., KNEŽEVIĆ, M., & Vajs, V. (2013). The total phenolics and antioxidants from fruit and vegetables: An evaluation of daily intake. *Agriculture & Forestry/Poljoprivreda i Sumarstvo*, 59(1).
- Tuel, A., & Hubert-Pfalzgraf, L. G. (2003). Nanometric monodispersed titanium oxide particles on mesoporous silica: synthesis, characterization, and catalytic activity in oxidation reactions in the liquid phase. *Journal of Catalysis*, 217(2), 343-353.
- Vaishnav, P., & Demain, A. L. (2011). Unexpected applications of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 29(2), 223-229.
- Van Der Voort, P., Benjelloun, M., & Vansant, E. F. (2002). Rationalization of the synthesis of SBA-16: controlling the micro-and mesoporosity. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(35), 9027-9032.

- Van Der Voort, P., Ravikovitch, P. I., De Jong, K. P., Neimark, A. V., Janssen, A. H., Benjelloun, M., ... & Vansant, E. F. (2002). Plugged hexagonal templated silica: a unique micro-and mesoporous composite material with internal silica nanocapsules. *Chemical Communications*, (9), 1010-1011.
- Verri, W. A., Vicentini, F. T., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., Cardoso, R. D., Cunha, T. M., & Casagrande, R. (2012). Flavonoids as Anti-Inflammatory and Analgesic Drugs: Mechanisms of Action and Perspectives in the Development of Pharmaceutical Forms-Chapter 9.
- Wang, Y., Zhao, Q., Han, N., Bai, L., Li, J., Liu, J., ... & Wang, S. (2015). Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(2), 313-327.
- Wang, S., Su, R., Nie, S., Sun, M., Zhang, J., Wu, D., & Moustaid-Moussa, N. (2014). Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. *The Journal of nutritional biochemistry*, 25(4), 363-376.
- Ziarani, G. M., Badiei, A., Mousavi, S., Lashgari, N., & Shahbazi, A. (2012). Application of amino-functionalized SBA-15 type mesoporous silica in one-pot synthesis of spirooxindoles. *Chinese Journal of Catalysis*, 33(11), 1832-1839.
- Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 129-143.