

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**



***“ANTOCIANINAS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE SU  
PROCESAMIENTO Y POTENCIAL USO COMO  
COLORANTE NATURAL EN ALIMENTOS”***

**AFE a Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al  
grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos por:**

*Eliana Ramos Córdoba*

**Directores de Tesis: Dr. Luis Puentes D.  
Dr. Roberto Lemus M.**

**Santiago-CHILE**

**Agosto 2021**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN DE AFE A TESIS DE MAGÍSTER.**

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la AFE a Tesis de Magíster presentada por el candidato:

*Eliana Ramos Córdoba*

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de AFE a Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos, en el examen público rendido el día

**Director de Tesis:**

**Dr. Luis Puente**

---

**Dr. Roberto Lemus**

---

**Comisión Evaluadora de Tesis:**

**Dra. Nalda Romero**

---

**Dra. Mónica Rubilar**

---

**Dra. Paz Robert**

---

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a todas esas personas que me acompañaron, me dieron su sonrisa, amor, energía, conocimientos, tiempo, compañía. A mis padres, mi soporte, mi hermana su amor, mi abuela, con su entrega y energía, mi prima siempre ahí, mis tíos incondicionales, mi familia colombiana en Chile con su soporte, apoyo y escucha, a mis amigos que hacen que todo se mueva más liviano y a ti por tu apoyo, tu amor, tu guía, tus palabras y tu contención.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todos los que estuvieron en mi vida por largo o corto tiempo en estos dos últimos años. A mi Mamá, mi Papá, mi hermana, mi abuela, familia y amigos. A mis profesores Luis Puente y Roberto Lemus gracias por su apoyo incondicional, por su orientación, motivación, por escucharme y por ser un ejemplo de practicidad, creatividad, trabajo en equipo y mente abierta. A mis queridos compañeros Constanza, Sandra e Ignacio por ser un gran equipo y amigos en todo este proceso. A la profesora Alicia Rodríguez quién desde el primer contacto que tuvimos hizo lo posible para que mi estadía en Chile no solo académica si no personal fuera exitosa y por último a la Universidad de Chile por permitir y facilitar que personas extranjeras puedan tener acceso y facilidades para hacer parte del claustro universitario.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	IX
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Colorantes: definición.....	1
1.2. ¿Por qué se usan los colorantes en la industria de alimentos? .....	2
1.1. Legislación de colorantes .....	2
1.2. Colorantes artificiales .....	4
1.2.1. Problemas de los colorantes artificiales.....	5
1.3. Colorantes naturales.....	6
1.3.1. Problemas de los colorantes naturales .....	7
1.3.2. Antocianinas: generalidades .....	8
1.3.3. Estructura de las antocianinas .....	10
1.3.4. El color y las antocianinas.....	11
1.3.5. Antocianinas como colorante natural .....	14
1.3.6. Estabilidad de las antocianinas .....	15
1.3.7. Procesamiento .....	17
1.3.8. Proceso de extracción.....	18
1.3.9. Estabilización del extracto .....	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y APORTE AL CONOCIMIENTO.....	20
3. OBJETIVO GENERAL .....	21
3.1. Objetivos específicos.....	21
4. METODOLOGIA .....	22
4.1. Recolección de información: .....	22
4.2. Aplicación de criterios de inclusión y exclusión .....	23
4.3. Consolidación y codificación de la información.....	25
4.4. Clasificación de la información .....	25
4.5. Creación de bases de datos .....	25
4.6. Establecimiento de relaciones entre los datos recolectados .....	25
4.7. Tratamiento de datos.....	26
4.8. Análisis de color .....	26
4.9. Términos relevantes mencionados durante el documento .....	26
4.10. Esquema de trabajo.....	27
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
5.1. Distribución estudios de antocianinas.....	28
5.2. Fuentes de antocianinas investigadas.....	29
5.2.1. Especies más reportadas .....	32
5.3. Extracción de antocianinas: métodos.....	36

5.4.	Tecnologías de extracción objeto de estudio .....	39
5.5.	Métodos de extracción convencional: extracción con solvente .....	39
5.5.1.	Solventes de extracción: generalidades .....	41
5.5.2.	Solventes usados .....	42
5.5.3.	Etanol .....	44
5.5.4.	Metanol .....	45
5.5.5.	Agua .....	46
5.5.6.	Índice de polaridad de los solventes .....	46
5.5.7.	Acidificación de solventes.....	49
5.5.8.	Ácidos usados y su concentración .....	51
5.5.9.	Uso de HCl .....	53
5.5.10.	Comparación HCl vs otros ácidos.....	54
5.5.11.	Soluciones sulfuradas.....	55
5.5.12.	Temperatura .....	56
5.5.13.	Temperatura y tiempo .....	57
5.5.14.	Relación solido - liquido .....	59
5.5.15.	Optimización de variables.....	62
5.5.16.	Optimización del tipo de solvente.....	65
5.5.17.	Optimización de la concentración del solvente.....	66
5.5.18.	Optimización de tiempo y temperatura .....	67
5.5.19.	Optimización de la acidificación de solventes .....	68
5.5.20.	Optimización relación S/L .....	69
5.6.	Extracción por ultrasonido.....	69
5.6.1.	Solvente.....	70
5.6.2.	Temperatura .....	72
5.6.3.	Tiempo .....	73
5.6.4.	Relación S/L.....	76
5.6.5.	Frecuencia y poder .....	76
5.6.6.	Ultrasonido vs extracción convencional.....	77
5.7.	Estabilización de antocianinas.....	81
5.7.1.	Microencapsulación.....	82
5.7.2.	Liofilización .....	82
5.7.3.	Condiciones de operación .....	84
5.7.4.	Agentes encapsulantes.....	86
5.7.5.	Materiales de pared más usados .....	89
5.7.5.1.	Goma arábica.....	89
5.7.5.2.	Proteína de soya .....	90
5.7.5.3.	Maltodextrina.....	91
5.7.5.4.	Efecto del valor DE en la microencapsulación por liofilización .....	92
5.7.5.5.	Dosificación de maltodextrina al extracto.....	93

5.7.5.6.	Efecto combinación de agentes encapsulantes .....	95
5.8.	Secado por aspersión .....	96
5.8.1.	Efectos de la temperatura de entrada .....	97
5.8.1.1.	Efecto sobre el rendimiento .....	98
5.8.1.2.	Efecto sobre la retención de antocianinas .....	98
5.8.1.3.	Efecto sobre la solubilidad .....	99
5.8.1.4.	Efecto sobre el contenido de humedad.....	100
5.8.2.	Agentes encapsulantes secado por aspersión.....	100
5.8.2.1.	Relación núcleo – material de pared y tipo de agente encapsulante .....	102
5.8.2.2.	Efecto combinaciones agentes encapsulantes .....	103
5.8.2.3.	Efecto de la combinación de materiales de pared sobre el contenido de humedad..	105
5.8.2.4.	Efecto de la combinación de materiales de pared sobre la higroscopicidad.....	106
5.8.2.5.	Efecto combinación agentes encapsulante en la morfología .....	107
5.8.2.6.	Efecto valor DE en la maltodextrina .....	110
5.8.2.7.	Efecto del DE sobre la solubilidad .....	111
5.8.2.8.	Efecto del DE sobre el contenido de humedad .....	111
5.8.2.9.	Efecto del DE sobre la morfología de las microcápsulas .....	112
5.8.2.10.	Efecto del DE junto con la temperatura de entrada .....	114
5.8.2.11.	Efecto del DE y la temperatura de entrada sobre la morfología .....	116
5.9.	Comparación Liofilización – Secado por aspersión .....	119
5.9.1.	Comparación morfológica .....	121
5.10.	Estudios de estabilidad .....	124
5.10.1.	Temperatura: efecto .....	125
5.11.	Pruebas de estabilidad: temperatura .....	127
5.12.	Estudios de estabilidad térmica .....	127
5.12.1.	Vida media y constante de velocidad en pruebas de estabilidad térmica .....	129
5.13.	Pruebas de almacenamiento.....	131
5.13.1.	Efecto de la microencapsulación en la estabilidad térmica .....	133
5.13.2.	Efecto de diferentes agentes encapsulantes.....	135
5.14.	Pruebas de estabilidad al pH.....	138
5.15.	Relación temperatura y pH.....	141
5.15.1.	Caso de estudio 1 .....	142
5.15.2.	Caso de estudio 2 .....	143
5.16.	Pruebas de estabilización por copigmentación .....	145
5.17.	Pruebas de color.....	145
5.17.1.	Efecto de los procesos de estabilización y agentes encapsulantes: liofilización y secado por aspersión.....	146
5.17.2.	Efecto del agente encapsulante .....	149
5.17.3.	Estudios realizados en productos terminados.....	152
6.	CONCLUSIONES .....	157

7.	PERSPECTIVAS PARA EL FUTURO.....	159
	Extracción Fluidos Super críticos (SFE).....	175
	Extracción asistida por microondas.....	178
	Extracción enzimática.....	181
	Extracción liquido presurizado.....	182
	Extracción asistida con calor óhmico.....	183
7.1.1.	Adición de goma arábica.....	188
7.1.2.	Adición de polifenoles y una saponina.....	192
7.1.3.	Adición de $\beta$ – ciclodextrina.....	193
7.1.4.	Adición de rutinosa y ácido ferúlico.....	194
7.1.5.	Adición de aminoácidos.....	195
	EFFECTO CONDICIONES DE SECADO POR ASPERSIÓN.....	197
	EFFECTO DEL VALOR DE.....	200
8.	BIBLIOGRAFIA.....	203



## **RESUMEN**

Se realizó una recopilación, consolidación y análisis sobre los procesos de extracción, estabilización y pruebas de estabilidad de las antocianinas con miras a ser usadas como colorante natural. Se inició con una búsqueda y sistematización de información de dichos temas en bases de datos reconocidas con publicaciones que fueran mayores al año 2000. En total se revisaron 200 publicaciones entre artículos y reviews. Se identificaron las metodologías de extracción más reportadas (extracción por solvente y extracción por ultrasonido), sus condiciones de evaluación (solventes, tiempos, temperaturas, entre otros) y su efecto sobre la calidad del extracto. También se realizó el mismo análisis para los procesos de estabilización, encontrando que la microencapsulación es la tecnología más reportada, seguido de la copigmentación. La liofilización y el secado por aspersión fueron las tecnologías de microencapsulación más reportadas. De estas dos tecnologías se definieron las condiciones más reportadas y su efecto en la calidad de la estabilización. Se encontraron estudios que evaluaron la estabilidad de las antocianinas después del proceso de extracción y estabilización con buenos resultados que abren las expectativas de encontrar nuevas fuentes de colorantes naturales a través de las antocianinas.

## **ABSTRACT**

### **“Anthocyanins: Literature review of sources, processing technologies and potential as a natural food colorant”**

A compilation, consolidation, and analysis of the processes of extraction, stabilization and stability tests of anthocyanins to be used as a natural colorant was carried out. We started with a search and systematization of information on these topics in recognized databases with publications older than year 2000. A total of 200 publications were reviewed, including articles and reviews. The most reported extraction methodologies (solvent extraction and ultrasound extraction), their evaluation conditions (solvents, times, temperatures, among others) and their effect on the quality of the extract were identified. The same analysis was also performed for stabilization processes, finding that microencapsulation is the most reported technology, followed by copigmentation. freeze drying and spray drying were the most reported microencapsulation technologies. From these two technologies, the most reported conditions and their effect on stabilization quality were defined. Studies were found that evaluated the stability of anthocyanins after the extraction and stabilization process with good results that open expectations of finding new sources of natural colorants through anthocyanins.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Colorantes: definición

Los colorantes son sustancias que incorporan determinadas longitudes de onda y tienen la capacidad de adherirse a otras sustancias dándoles color, gracias a una estructura dentro de la molécula conocida como cromóforo (Delgado-Vargas et al., 2010). El color es el resultado de propiedades de superficie, propiedades de transmisión y propiedades de emisión de un objeto y estos factores relacionados llevan a la mezcla de longitudes de onda de luz que se emiten desde una determinada superficie y son aceptadas por el ojo humano (Chattopadhyay et al., 2008).

Se encuentran 4 tipos de clasificación de colorantes, por su origen, por la estructura química del cromóforo, por las características estructurales de colorante natural y por su solubilidad:

1. Por su origen, esto teniendo en cuenta la fuente de donde proviene, pueden ser:
  - Naturales
  - Idénticos al natural
  - Sintéticos
2. Por la estructura química del cromóforo (Delgado-Vargas et al., 2010):
  - Cromóforos con sistemas conjugados
  - Porfirinas coordinadas con metales.

3. Por las características estructurales de los pigmentos naturales (Delgado-Vargas et al., 2010)

- Derivados del tetrapirrol: clorofilas
- Derivados del Isoprenoide: carotenoides
- Compuestos N- Heterociclicos diferentes del tetrapirrol.
- Derivados del benzopirano: antocianinas y algunos flavonoides.
- Quinonas: Benzoquinona.
- Melaninas.

4. Por su solubilidad (Amchova et al., 2015):

- Solubles.
- Insolubles.

### **1.2.¿Por qué se usan los colorantes en la industria de alimentos?**

Los colorantes son adicionados a los alimentos por las siguientes razones: (i) buscando compensar un color ya existente el cual desapareció o disminuyó su intensidad debido al proceso productivo o almacenamiento, (ii) minimizar las variaciones entre lotes, (iii) potenciar un color o hacerlo más atractivo, (iv) adicionar color a un producto que no lo tiene (Amchova et al., 2015; Juan, 2013; Lakshmi, 2014), (v) para proteger el sabor y las vitaminas que sean susceptibles a la luz (haciendo un soporte de pantalla de luz) (Chattopadhyay et al., 2008) o (vi) por otra condición especial de estrategia de venta o diferenciación que sea requerida para lograr el objetivo que es que el cliente compre el producto (Lakshmi, 2014).

### **1.1. Legislación de colorantes**

En primer lugar, el Codex Alimentarius cuenta con una serie de normas generales para aditivos alimentarios, las cuáles busca armonizar las normas internacionales sobre aditivos, este organismo identifica los aditivos alimentarios bajo un Sistema Internacional de Numeración (INS) que contiene en la lista de ingredientes de uso alimentario a los colorantes identificados con un número de 3 cifras.

En cuanto a la Unión Europea, por medio de la EFSA se realiza un dictamen científico de los colorantes, que incluye información sobre especificaciones químicas y técnicas del colorante, descripción del proceso de fabricación, métodos analíticos utilizados para la determinación, reactividad química con los alimentos, resumen de la autorización de uso actual, rango de dosis, información toxicocinética (absorción, distribución, metabolismo y excreción), datos toxicológicos como toxicidad oral aguda, toxicidad subcrónica, y crónica, carcinogenicidad, genotoxicidad, toxicidad para el desarrollo y la reproducción e hipersensibilidad a la sustancia (Amchova et al., 2015). En esta región debe cumplirse con el reglamento CE1333/2008 para que un colorante pueda ser usado. En cuanto a la identificación los colorantes aprobados se registran con una la letra E seguido por un número del 100 al 199 (Carmona, 2013).

En Estados Unidos los colorantes son regulados por la FDA y se clasifican en dos, colorantes certificados y colorantes libres de certificación, los primeros son producidos sintéticamente y se identifican con un prefijo FD&C o D&C, el color y un número, ejemplo: FD&C Yellow N° 6, este es tartrazina, los segundos incluyen pigmentos de origen natural (Carmona, 2013).

En cuanto a Chile, en el reglamento sanitario de los alimentos se tiene una lista que define los colorantes que pueden ser adicionados a productos alimenticios (artículo 145). En esta lista se hace referencia al N° SIN (Sistema Internacional de Numeración), el nombre según el Codex, el sinónimo y el límite máximo.

Adicional, en dicha lista se incluye una numeración de i al iii en la que se referencia algunas condiciones particulares de uso del colorante. (i) solo se puede usar en conservas de cerezas, macedonia de frutas y marroquino, (ii) solo para decoraciones y (iii) rotular en forma destacada.

## 1.2. Colorantes artificiales

Los colorantes artificiales son aquellos que no existen naturalmente y son producidos por síntesis química. Han sido ampliamente usados (Amelia et al., 2013) debido a sus propiedades fisicoquímicas, amplios rangos de color, rendimiento y estabilidad en la matriz aplicada (Arici et al., 2016) logrando cumplir el objetivo de su aplicación y es que los alimentos sean atractivos (Siti Azima et al., 2017). En la **Tabla 1** algunos colorantes artificiales con su nombre común, sinónimo y su identificación en la Unión Europea.

**Tabla 1.** Colorantes artificiales, nombre común y su identificación en la Unión Europea.

Nombre común	Sinónimo	N° UE	Descripción
Tartrazina	Amarillo	E102	Azoico, se presenta en forma de polvo o gránulos. Color naranja claro, soluble en agua e insoluble en etanol.

Azorrubina	Camoisina	E122	Color rojo a castaño. Es soluble en agua, uso en amplios valores de pH 3 a 8 y resistente a la luz.
Allura red AC	Rojo 40	E129	Azoicos, color rojo oscuro. Buena estabilidad a pH 3 a 8, luz y alta temperaturas.
Negro brillante BN	Nd	E151	Azoico, color negro. Su presentación es en polvo o gránulos. Establa a pH 3 a 8 y frente a la exposición de la luz.
Amarillo crepúsculo	Amarillo ocaso	E110	Azoico, rojo a anaranjado, soluble en agua e insoluble en etanol. Buena estabilidad a altas temperaturas, a la luz, y a pH entre 3 – 8.
Azul brillante	Azul 2	E133	Azul rojizo, se usa para dar tonalidad morada. Soluble en agua y escasamente soluble en etanol. Buena estabilidad a altas temperaturas.

### 1.2.1. Problemas de los colorantes artificiales

No es un secreto que de la industria alimentaria, la adición de colorantes artificiales es una de las actividades más controversiales (Gomes et al., 2014; X. Ge et al., 2009). Se tienen hallazgos de diferentes efectos por diversos autores como: (i) presencia de compuesto tóxicos a los que se les atribuyen efectos como la hipercinesia y las dificultades de aprendizajes (Sagdic et al., 2013), (ii) desarrollo de alergias en niños , aumento de riesgo de cáncer (Gomes et al., 2014), toxicidad (Amelia et al., 2013) y (iii) reacciones de hipersensibilidad, urticaria, edema y asma (Arici et al., 2016).

De acuerdo con lo anterior, algunos colores rojos han sido prohibidos en algunos países: en Estados Unidos se prohibió el FD&C Red N°2 (amaranto), el scarlet GN y ponceau GR en Francia y el Naranja RN en el Reino Unido (Gomes et al., 2014).

### 1.3. Colorantes naturales

Dentro de esta clasificación se encuentran aquellos colorantes que tienen como fuente un origen natural tal como plantas (flores, hojas raíces, frutas), animales, minerales y microorganismos. Dada la creciente búsqueda de alimentos libres de colorantes artificiales y la conciencia de los consumidores por consumo de productos que generen un valor adicional, existe un impulso a la industria e investigadores de todo el mundo a explorar estas alternativas. Algunos ejemplos de colorantes naturales y sus fuentes son mostradas en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Ejemplos de colorantes naturales y sus fuentes. (Chattopadhyay et al., 2008; Sigurdson et al., 2017)

Colorante	Fuentes
Clorofila	Espinaca
Luteína	<i>Tagetes erecta</i>
Licopeno	Tómate
Antocianinas aciladas	Zanahoria negra
Antocianinas	Piel de uva o su extracto, berries, zanahoria, repollo
Carotenoides	<i>Tagetes erecta</i> , <i>Crocus sativus</i>

Adicional al uso como colorantes, algunos de estos compuestos se les atribuye otras funciones tales como:



- (i) Preservante de alimentos, se ha visto que algunos colorantes como las antocianinas muestran un papel antagónico frente a algunas bacterias, virus y hongos protegiendo a los alimentos del daño.
- (ii) Propiedades terapéuticas ya que varios colorantes tienen funciones frente a diferentes temas asociados a la salud, como trastornos relacionadas con el estrés (productos de la remolacha roja), propiedades antioxidantes protegiendo de daños del envejecimiento, degeneración muscular y cataratas seniles ( xantofilas de luteína, zeaxantina y astaxantina), entre otros (Chattopadhyay et al., 2008).

### **1.3.1. Problemas de los colorantes naturales**

Los colorantes naturales tienen ciertas desventajas vs los artificiales como los siguientes: (i) la disponibilidad para producir las cantidades demandadas por la industria no es suficiente en muchos casos (Chattopadhyay et al., 2008), (ii) generalmente son más costosos, (iii) se requiere gran cantidad de materia prima para su producción, (iv) pueden otorgar algunos sabores desagradables al producto y (v) su estabilidad es más susceptible que la de un color artificial a factores como el pH, la luz, la temperatura u otras condiciones de la matriz en las que es aplicado (Sigurdson et al., 2017).

En cuanto a la disponibilidad de fuentes para la producción de colorante naturales esta es limitada, entendiéndose que son metabolitos secundarios de plantas. Además, se

menciona que la agricultura debe seguir centrándose en la producción de alimentos para una población en crecimiento y que los colorantes naturales sin duda no importan para millones de personas (Delgado-Vargas et al., 2010).

Adicional a esto, Delgado-Vargas et al., (2010) también mencionaron que el número de colorantes investigados que están aprobados para ser usados en la industria es muy limitado porque no logran cubrir los requisitos económicos, legales y de seguridad que solicitan los gobiernos a los aditivos alimentarios. Muchos investigadores han puesto sus esfuerzos para obtener colorantes de nuevas fuentes, pero esto ha sido en vano debido a la dificultad de aprobación por parte de la Unión Europea o la FDA (Food and Drug Administration).

### **1.3.2. Antocianinas: generalidades**

Los polifenoles hacen parte del metabolismo secundario de plantas. Dentro de este grupo, de los llamados compuestos fenólicos existen una gran variedad que se caracterizan por tener un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, como los flavonoides. Los flavonoides quizá están entre los más importantes y abundantes metabolitos secundarios en las plantas (Cendrowski et al., 2017).

Las antocianinas son descritas como colorantes naturales de origen fenólico (Amelia et al., 2013; Siti Azima et al., 2017), solubles en agua (Sagdic et al., 2013), incluidos dentro de la clase de los flavonoides (Amelia et al., 2013) y son responsables del color

de diversos tejidos vegetales de flores y frutas (Arici et al., 2016; Siti Azima et al., 2017) incluidas sus hojas, raíces y tallos (Bueno et al., 2012).

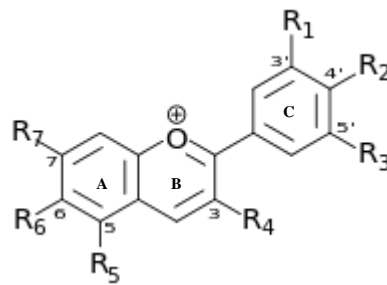
Se encuentran acumuladas en la vacuolas de la célula a un pH de 5,5 aproximadamente (Islam, 2016), en flores están normalmente en las células epidérmicas y cumple distintas funciones fisiológicas/ ecológicas como fenómenos de simbiosis (Delgado-Vargas et al., 2010), atracción de polinizadores para dispersar semillas, protección de los efectos ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana a la planta (Gloria Astrid Garzón, 2010).

Es importante nombrar que las antocianinas cambian su concentración y estructura química de acuerdo con el tejido vegetal donde se encuentren (Islam, 2016), hay plantas que tienen un solo tipo principal de antocianinas y otras contienen mezclas, como es el caso de las rosas (Delgado-Vargas et al., 2010). Por ejemplo, *Rosa rugosa* de la familia *Rosácea*, contiene dentro de sus compuestos activos antocianinas tales como cianidinas, pelargonidinas, y peonidinas.

Los colores que se pueden observar en los distintos tejidos vegetales gracias a las antocianinas pueden ser rosado, rojo, naranja, purpura, violeta, azul entre otros (Arici et al., 2016; Islam, 2016) y dentro de las principales fuentes naturales de estas se encuentran las bayas de frutos rojos como, sauco, moras, arándanos, frambuesa, etc., piel de berenjena, cereza, arroz negro, zanahoria negra, uvas, repollo rojo, granadas y pétalos de flores (Islam, 2016; J. H. Lee et al., 2011).

### 1.3.3. Estructura de las antocianinas

La estructura de las antocianinas tiene como base un esqueleto C6-C3-C6, formando 2 anillos aromáticos A y B, unidos a un anillo C (**Figura 1**), son glicosiladas polihidroxi o polimetoxi derivados del 2 – fenilbenzopirilio, su peso molecular puede ser de 400 a 1200 (Bueno et al., 2012), la estructura con la carga positiva es conocida como ion flavilium (Islam, 2016). El cromóforo de las antocianinas es ion 7-hidroxi-flamante, este es el responsable del color rojo anaranjado a azul violeta producido por las antocianinas en condiciones acidas.



**Figura 1.** Estructura básica de las antocianinas

La estructura de las antocianinas es conformada por dos o tres unidades químicas, (i) una base de aglicón o un anillo de flavilo (antocianidina), (ii) azúcares y posiblemente (iii) grupos acilantes (Bueno et al., 2012). Se menciona la existencia de 17 antocianidinas o aglicones con algunas diferencias en los grupos hidroxilo y metil éter en cuanto a ubicación y número, sin embargo, de estas solo 6 se consideran relevantes y son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina (Q. Ge & Ma, 2013a).

Las diferencias entre estas 6 antocianidinas están en la posición 3' y 5' del anillo B (Bueno et al., 2012). Cada uno de estos aglicones o antocianidinas pueden ser acilados o glicosidados por distintos ácidos y azúcares respectivamente, que pueden ser tanto aromáticos como alifáticos (Bueno et al., 2012) y es así como es posible formar las diferentes antocianinas a través de la sustitución de los iones hidroxilo, por reacciones de tipo, metilación, acilación y glicosilación.

La glicosilación es posible con azúcares como glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, entre otros que podría unirse a las antocianinas y la acilación puede darse con ácidos orgánicos como, ácido cafeico, ácido p-cumárico ácido sinápico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido ferúlico, ácido malónico, ácido málico, ácido succínico y ácido acético y dependiendo de esto pueden darse origen a un número de antocianinas en la naturaleza de aproximadamente 600 (Q. Ge & Ma, 2013a).

#### **1.3.4. El color y las antocianinas**

“De un mismo pigmento se puede dar lugar a diferentes colores” (Bueno et al., 2012) y este es el caso de las antocianinas ya que, por diversos factores, es posible dar la gama de tonalidades que pueden ir de color rosado, rojo, hasta violeta y azul, algunos factores que son responsables de esta variedad son (Bueno et al., 2012):

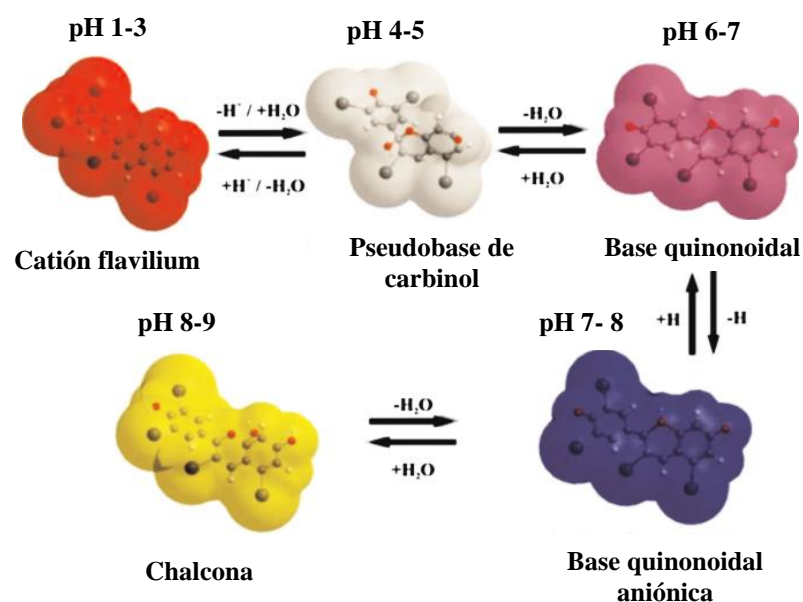
- Naturaleza y concentración de la antocianidina de la que se deriva.
- Tipo de antocianina y sus sustituyentes (glicosilación y acilación).
- Complejos metálicos existentes.

- Formación y proporción de estructuras secundarias de antocianidina (formas de equilibrio que se describirán más adelante).
- Naturaleza de la copigmentación la cual es una forma de estabilizar colores naturales y es posible gracias a que las antocianinas pueden reaccionar con alcaloides, aminoácidos, ácidos benzoicos, cumárico, cinámico y otros (Delgado-Vargas et al., 2010). Esto permite que en medio natural el color muestre tal intensidad.

El pH es uno de los factores que más influencia sobre el color de las antocianinas en el medio. Por ejemplo, es posible ver como en una solución a un pH entre 4 y 6, pueden darse diversas estructuras debido a fenómenos como la hidratación, la transferencia de protones y las reacciones de tautomerización. En estas condiciones pueden obtenerse cuatro principales estructuras secundarias en equilibrio que son: catión flavilium (color rojo), base quinoidal (color púrpura), pseudobase de carbinol (incolore) y pseudobase chalcona (amarillo) (Islam, 2016), siendo el color resultante una proporción existente entre cada una de las estructuras en equilibrio (**Figura 2**).

Algunos otros ejemplos dados por las conclusiones obtenidas por diversos estudios sobre el color en las antocianinas son los siguientes:

- (i) A pH 1 – 3, las estructuras del ion flavilim de color rojo predominan en la solución.
- (ii) A pH 5 la pseudobase de carbinol es incolora y a pH 7 – 8 se forma base quinoidal azul púrpura



**Figura 2.** Estructuras y color de las antocianinas de acuerdo con el pH. tomado de (Özgür & Çimen, 2018).

- (iii) Cuanto mayor es el número de grupos hidroxilo en el anillo B más azul es su tonalidad.
- (iv) La acilación aromática provoca un cambio de color azul y estabiliza las antocianinas.
- (v) La acilación alifática no cambia el color, pero aumenta la solubilidad y la estabilidad.
- (vi) Los pigmentos derivados de pelargonidina y cianidina producen tonos rojos y púrpura respectivamente, mientras que los derivados de delphinidina una tonalidad azul y púrpura (las rosas y claveles de raza clásica carecen de

derivados de delfinidina por eso no hay especies azules o violetas) (Bueno et al., 2012).

(vii) En la **Figura 3** puede verse las 6 antocianidinas principales y el color al que están relacionadas.



**Figura 3.** Antocianidinas y el color con el que están relacionadas, tomado de (Özgür & Çimen, 2018).

### 1.3.5. Antocianinas como colorante natural

Es bien conocido y reportado por diversos autores que las antocianinas son catalogadas como uno de los colorantes de origen vegetal más importantes (Arici et al., 2016; Assous et al., 2014; Delgado-Vargas et al., 2010; Q. Ge & Ma, 2013a). Actualmente se cree que las antocianinas pueden llegar a ser una alternativa segura y efectiva (Amelia et al., 2013) frente a colorantes sintéticos en la industria alimentaria (Assous et al., 2014; Duangmal et al., 2008).

En particular, existe gran interés por las alternativas de reemplazo de antocianinas de tonos sintéticos rojos donde podría llegar a ser muy popular (Duangmal et al., 2008). Uno de los colorantes artificiales que es candidato a ser reemplazado es el FD&C Red



No. 40 (Assous et al., 2014), el cual no es recomendado para ser consumido en niños por la Unión Europea y en el mundo se usa para dar color a golosinas, helados, postres, bebidas sin alcohol, complementos alimentarios y cosméticos (Juan, 2013).

Algunas aplicaciones actuales de las antocianinas como colorante natural incluyen refrescos, conservas de frutas, productos de confitería productos lácteos, mezclas secas (bebidas en polvo, mezclas de postres acidas), productos congelados (de hielo y crema), siendo los refrescos las aplicaciones más importantes.

### **1.3.6. Estabilidad de las antocianinas**

Se reportan problemas de estabilidad durante el almacenamiento y el procesamiento de las antocianinas. Condiciones como la luz, la temperatura, pH, actividad de agua de la matriz y la presencia de oxígeno pueden deteriorar y causar decoloración de estos compuestos (Bakowska-Barczak, 2005; Cendrowski et al., 2017; Duangmal et al., 2008; Gloria Astrid Garzón, 2010; Sagdic et al., 2013).

Para dar mayor claridad, algunas evidencias encontradas por diversas investigaciones sobre algunos de los factores o condiciones que afectan la estabilidad de las antocianinas a continuación:

- **pH:** en la estabilidad de las antocianinas ya fue descrito, sin embargo, es relevante nombrar que para la aplicación de las antocianinas es importante que se realice sobre productos ácidos por debajo de 3,5, en caso de que se requiera

aplicar color rojo, ya que en este rango será más estable (Cavalcanti et al., 2011).

**Temperatura:** La estabilidad de antocianinas decrece durante el procesamiento o almacenamiento cuando la temperatura aumenta y puede afectar el contenido de antocianinas (Cavalcanti et al., 2011). Se tienen estudios que reportan el decrecimiento de la concentración de antocianinas conforme la temperatura va en aumento (Patras et al., 2010).

Los incrementos de temperatura, teniendo en cuenta que en alimentos que lo requieren y son procesados a temperaturas entre 50 - 150 °C (Patras et al., 2010), pueden generar la pérdida del azúcar glicosilante y apertura del anillo produciendo chalconas incoloras y degradación de las antocianinas (Gloria Astrid Garzón, 2010; Khoo et al., 2017).

- **Estructura:** De acuerdo a la influencia de la estructura puede verse que (i) cuando aumenta la hidroxilación disminuye la estabilidad, cuando incrementa la metilación incrementa, (ii) las antocianinas que tienen galactosa en su estructura son más estables que aquellas que tienen arabinosa y (iii) la acilación aumenta la estabilidad de las antocianinas (Bakowska-Barczak, 2005; Giusti & Wrolstad, 2003).
- **Presencia de antocianidinas:** Las antocianidinas de las que se derivan las antocianinas también influyen su estabilidad ya que aquellas ricas en

pelargonidina, cianidina o delphinidina son menos estables que aquellas que tienen petunidina o malvidina.

- **Oxígeno:** amplifica el impacto de otros procesos de degradación, por ejemplo, cuando aumenta la temperatura en presencia de este se ha observado que es la combinación más perjudicial para el deterioro en jugos de bayas. También se ha reportado un impacto positivo y es que en los primeros días de almacenamiento (0-7 días) puede aumentar el contenido de antocianinas, pero después esto empieza a disminuir (Cavalcanti et al., 2011).
- **Luz:** esta es esencial para la biosíntesis de antocianinas, sin embargo, también acelera su degradación. Es así como estas se conservan mucho mejor cuando no están en contacto con luz, de esta forma no se verá afectado el contenido de antocianinas (Cavalcanti et al., 2011).
- **Presencia de ácido ascórbico:** el ácido ascórbico y los productos de su degradación aumentan la tasa de degradación de antocianinas originando en algunos casos pérdida de color (Cavalcanti et al., 2011).

### 1.3.7. Procesamiento

En la literatura existe variedad de metodologías que buscan lograr tanto la extracción de antocianinas como su estabilización para obtener un producto que permita aplicarse en una matriz alimentaria garantizando su estabilidad, efectividad y rentabilidad. A continuación una descripción de estas dos etapas (extracción y estabilización).

### **1.3.8. Proceso de extracción**

Para el proceso de extracción es importante garantizar el mejor vehículo que permita aumentar la solubilidad del compuesto a extraer y su difusión a través de las paredes celulares. En el caso de las antocianinas que son moléculas polares gracias a sus sustituyentes hidroxilo, carboxilo, metoxilo y residuos de glicósido, el agua y otros compuestos polares como el etanol o el metanol (Delgado-Vargas et al., 2010) son un buen vehículo para la extracción.

Para los procesos de extracción en donde se requiere obtener las antocianinas a partir de las vacuolas de las células vegetales (donde se encuentran las antocianinas) se han empleados diferentes tecnologías. La extracción con solvente, altas presiones hidrostáticas, campo eléctrico pulsado, extracción asistida por sonicación, ultrasonido, irradiación gamma, extracción de fluido supercrítico (Yousuf et al., 2016), extracción enzimática, tecnología de membrana (Lakshmi, 2014; Pinela et al., 2019), microondas y cultivo de células vegetales son algunas de ellas (Delgado-Vargas et al., 2010).

### **1.3.9. Estabilización del extracto**

Al terminar la etapa de extracción, inicia el proceso para la estabilización de antocianinas. Este proceso busca definir de forma eficaz y eficiente, una tecnología que permita proteger las antocianinas de las condiciones que las afectan y así poder ser almacenadas y aplicadas a una matriz alimentaria (Yousuf et al., 2016).

Cavalcanti et al., (2011) y Guan & Zhong, (2015) reportaron que existen dos diferentes enfoques para estabilizar antocianinas, microencapsulación y reacciones de asociación como: adición de copigmentos, autoasociación entre antocianinas y asociación con metales como magnesio y aluminio con *o*- grupos hidroxilo de las antocianinas (Cavalcanti et al., 2011; Cortez et al., 2017; Guan & Zhong, 2015).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y APORTE AL CONOCIMIENTO**

La demanda por productos con etiquetas limpias, es decir, con tecnologías menos invasivas para los alimentos y libre de ingredientes artificiales como colorantes, entre otros, está en aumento. La investigación de antocianinas es una de las respuestas desde la academia a esta necesidad debido a sus potenciales usos como colorante natural e ingrediente funcional.

Para lograr lo anterior, y usar las antocianinas en nuevos productos, hay varias etapas esenciales en el proceso de investigación que de acuerdo con su naturaleza deben contemplarse. Algunas de estas son, la extracción, la estabilización y sus consecutivas pruebas de estabilidad.

En diversas bases de datos y fuentes técnicas, existe una amplia y variada información asociada a cada una de las anteriores etapas. Dicha información es esencial en diferentes momentos de futuras investigaciones y en algunos casos puede requerir una considerable cantidad de tiempo para encontrarla, ordenarla, sistematizarla y analizarla, debido tanto a su cantidad como su variedad.

Es por esto, que se hace la propuesta de este trabajo con el objetivo de aportar y hacer más ágiles aquellas etapas de planteamiento, análisis y comparación de información para procesos de extracción, estabilización y pruebas de estabilidad de antocianinas en futuras investigaciones.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

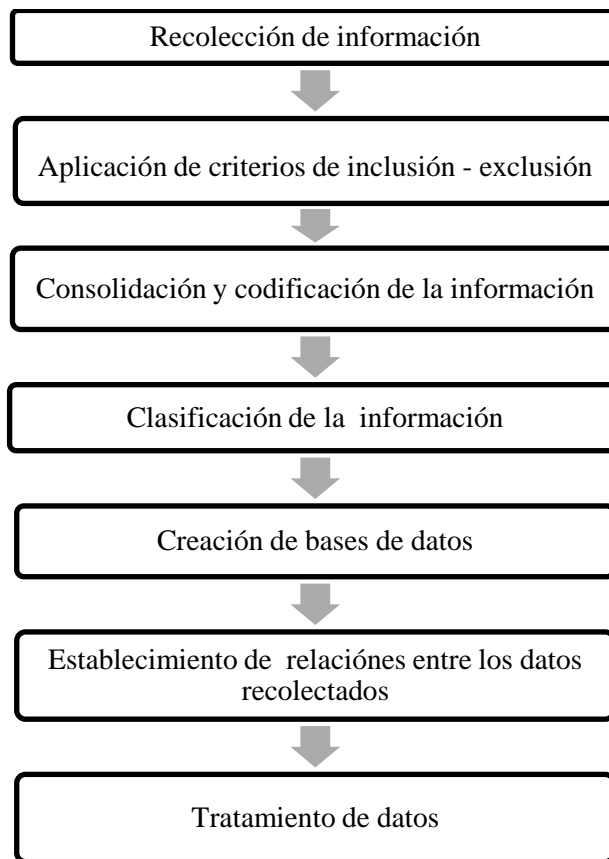
Consolidar y analizar las condiciones de los procesos de extracción - estabilización y pruebas de estabilidad de las antocianinas para ser usadas como colorante natural.

#### **3.1.Objetivos específicos**

- Recopilar y estudiar las fuentes de antocianinas más estudiadas.
- Recopilar y analizar las condiciones de tecnologías de extracción y estabilización de antocianinas más reportados.
- Estudiar las pruebas de estabilidad realizadas a las antocianinas para ser usadas como colorante natural.

## 4. METODOLOGIA

Para dar cumplimiento a los objetivos de este trabajo la información fue recopilada, organizada y analizada a través de siete fases tal como se observa en la **Figura 4**.



**Figura 4.** Fases definidas para la investigación,

### 4.1. Recolección de información

Se realizó búsqueda en diversas fuentes de bases de datos y otras fuentes técnicas que permitieran dar cumplimiento a los objetivos propuestos. La búsqueda fue realizada en Web of Science, Wiley Online Library, Springerlink, Taylor & Francis, Scopus, MDPI, ACS Publications, google scholar. También se usaron referencias citadas en



los artículos encontrados. La gestión de las referencias fue realizada con el software Mendeley.

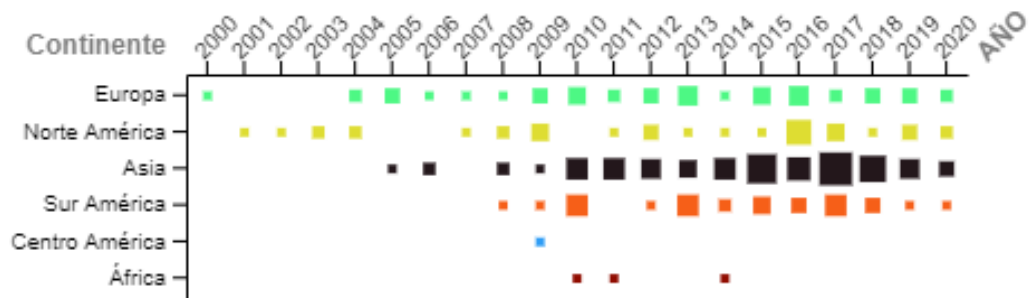
Los términos de búsqueda más usados fueron: extraction of anthocyanins, degradation of anthocyanins in natural food colorant, stabilization methods, extraction of natural dye of anthocyanins for, enhanced stability of anthocyanin, anthocyanins natural colorants.

#### **4.2. Aplicación de criterios de inclusión y exclusión**

Las publicaciones revisadas fueron desde el año 2000 hasta el año 2020 (**Figura 5**) y estas debían ser a partir artículos de investigación, reviews, tesis de magister o doctorados y libros. La búsqueda de información se realizó durante la ejecución del trabajo de tesis desde diciembre de 2019 a marzo de 2021.

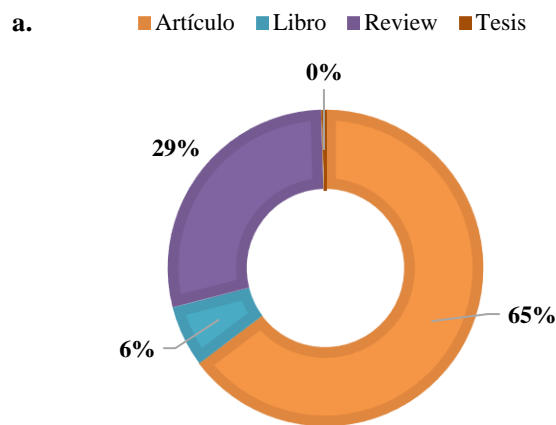
Los siguientes criterios de exclusión también fueron impuestos: (i) publicaciones de bases de datos que no fueran reconocidas, (ii) publicaciones más antiguas al año 2000, (iii) noticias o reportes de fuentes no científicas.

En la **Figura 5** es posible ver los años de publicación de la información técnica y científica revisada vs el continente generador. Se observa que todas las referencias fueron publicadas después del año 2000 y que la mayoría se publicó después de 2010 (aproximadamente el 75%) cumpliendo con el criterio previamente mencionado.



**Figura 5.** Relación de investigaciones por continente a través del tiempo desde el año 2000 hasta el año 2020. Gráfico usado: matriz. En este tipo de gráfico es posible ver la relación de los años de publicación vs el continente de generación por medio de cuadrados que aumentan su tamaño de acuerdo con el aumento de publicaciones de cada continente en el año.

Por otro lado, en la **Figura 6** se visualiza el porcentaje de referencias por tipo de documentos y el 65% de las fuentes son artículos científicos seguido por reviews y libros.



**Figura 6.** Diagnóstico de la información revisada (a) Porcentaje de referencias

### **4.3. Consolidación y codificación de la información**

Recopilación de títulos, objetivos, año de publicación, base de datos, revista, país donde se realizó la investigación. Todas las referencias aceptadas fueron codificadas numéricamente para tener trazabilidad.

### **4.4. Clasificación de la información**

Cada uno de los artículos fue revisado y clasificado de acuerdo con si contenía o no información y/o estudios sobre: (i) fuentes de antocianinas, (ii) tecnologías de extracción de antocianinas (iii) tecnologías de estabilización de antocianinas, (iv) pruebas de estabilidad de antocianinas y (v) aplicación y estudios de antocianinas como colorante natural.

### **4.5. Creación de bases de datos**

Se consolidó el detalle requerido de cada uno de los anteriores temas, en cuanto a condiciones de operación, pruebas realizadas, resultados, ensayos de optimización, etc.

### **4.6. Establecimiento de relaciones entre los datos recolectados**

Se analizaron los datos e información de cada uno de los temas revisados con el objetivo de encontrar puntos de comparación y de relación y con esto poder generar información visual para comunicar la información recolectada.

#### **4.7. Tratamiento de datos**

Se generaron distintas tablas y figuras que permitieron interrelacionar diferentes variables para poder hacer un tratamiento y análisis de datos más efectivo. Las tablas dentro del documento fueron creadas en Microsoft Excel y las figuras se obtuvieron de las siguientes aplicaciones, Datawrapper, Rawgraphs, Flourish y Mapchart

En estas aplicaciones, además de gráficos de torta, también se usaron los siguientes tipos de gráficos como diagrama aluvial, círculos de embalaje, gráfico de sankey, de burbujas, de rayos solares, beeswarm y casco convexo. Para ver una descripción de estos gráficos ir al **Anexo 1**.

#### **4.8. Análisis de color**

Otro análisis que se realizó en este estudio fue el efecto de distintas variables en el color de las muestras de antocianinas. Algunos artículos expresaron esta información en parámetros de color CIELab o CIElch. Para hacer una comparación visual se utilizó una herramienta para mostrar los tonos de color y además para convertir entre estas dos unidades y así poder comparar valores. Esta herramienta fue Colormine.

#### **4.9. Términos relevantes mencionados durante el documento**

A lo largo del documento se pueden encontrar algunas palabras o frases que es importante aclarar a que hacen referencia:

- Muestra o publicaciones revisadas: se refiere a la información científica revisada en este trabajo.

- Porcentaje de reporte: hace referencia a la relación de artículos revisados con los que se obtuvo la información o el dato que se mencione.
- “n”: hace referencia al número de artículos o publicaciones revisados que llevaron al resultado mencionado.
- Fuente o matriz de extracción: hace referencia a la especie(s) vegetales de las que se extrajeron las antocianinas.

#### 4.10. Esquema de trabajo

Con el objetivo de facilitar la lectura de esta revisión, se presenta el esquema resumen en la **Figura 7** con los temas a tratar durante el desarrollo y discusión de este trabajo:

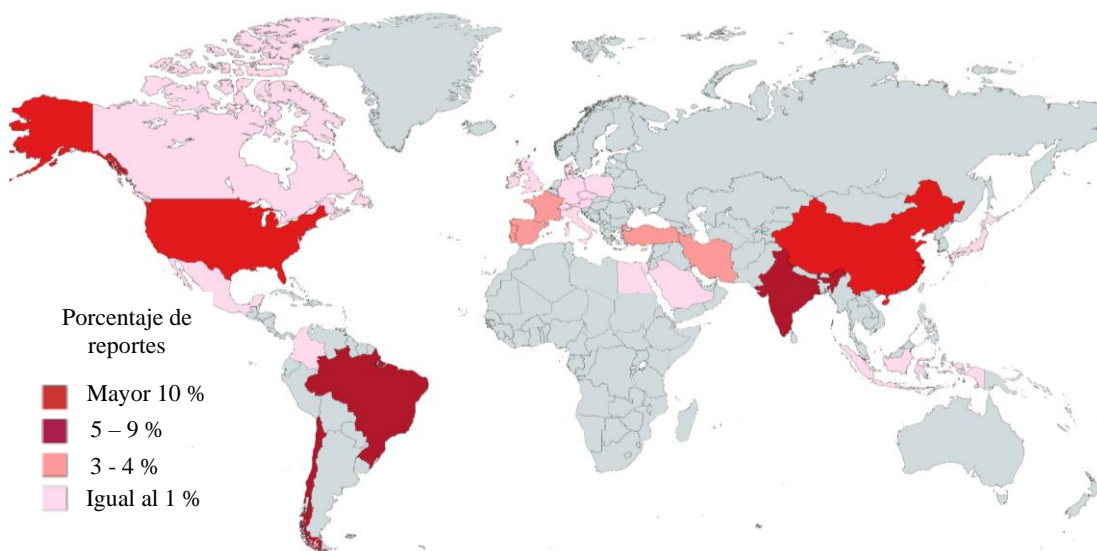
1. Generalidades	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paises de investigación de antocianinas</li> <li>• Fuentes de extracción</li> </ul>
2. Extracción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Métodos de extracción más usados, ventajas y desventajas.</li> <li>• Profundización en condiciones de extracción por solvente y ultrasonido</li> </ul>
3. Estabilización	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Métodos más usados de estabilización, copigmentación, liofilización y secado por aspersión.</li> <li>• Condiciones de operación.</li> <li>• Efectos</li> <li>• Ventajas y desventajas</li> </ul>
4. Pruebas de estabilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pruebas de estabilidad a temperatura y pH.</li> <li>• Pruebas de estabilidad por proceso de copigmentación.</li> <li>• Estudios relacionados a cada condición.</li> </ul>
5. Pruebas de color	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estudio de los parámetros de color CIELab y CIELch de acuerdo con diferentes condiciones de estabilización y de aplicación en producto.</li> </ul>

**Figura 7.** Etapas en las que se desarrollarán los resultados y la discusión durante este trabajo.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Distribución estudios de antocianinas

Actualmente las antocianinas están siendo estudiadas en muchas partes del mundo. En la **Figura 8** se visualiza la distribución de los países en los que se han reportado investigaciones, relacionando la intensidad del color de cada país con su % de aporte en la investigación sobre antocianinas. Se evidencia que se encontraron reportes de 26 países, siendo Estados Unidos y China aquellos con mayor número de publicaciones con el 16 % y el 11 % respectivamente. Le siguen Brasil, India y Chile con el 8%, 7% y 7% (Figura 16).



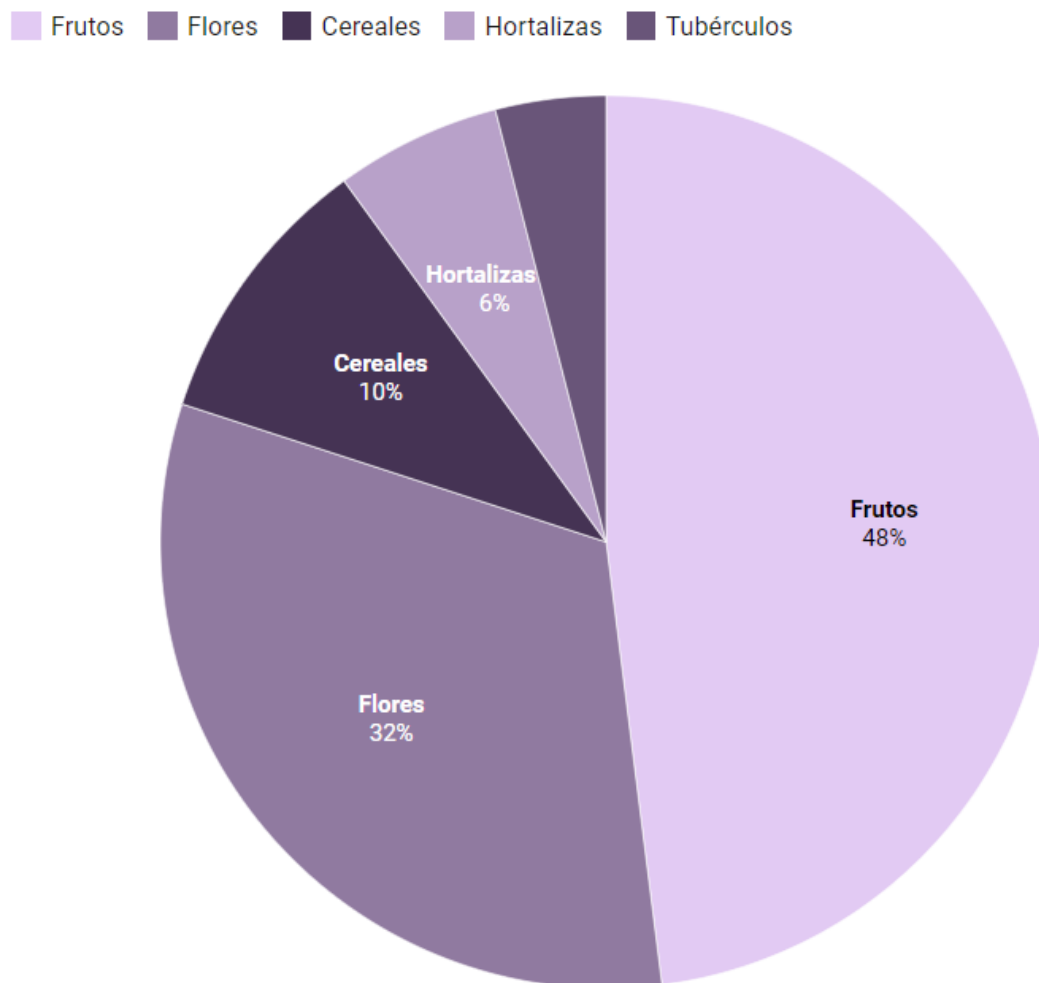
**Figura 8.** Distribución de estudios de antocianinas en el mundo de acuerdo con la muestra de literatura revisada. n=180.

En la **Figura 8** también se observa que el continente asiático es el que tiene más países con porcentajes de estudios superior al 5 %, estos países son, China, India Tailandia y Malasia. Por su parte Europa no tuvo ningún país con reportes superiores al 5 %. En Sur América, Chile y Brasil destacan en los estudios de antocianinas en la región.

## **5.2.Fuentes de antocianinas investigadas**

Las antocianinas, son pigmentos de origen natural encontrados dentro de las vacuolas de algunas células vegetales (Arici et al., 2016; Siti Azima et al., 2017). Las publicaciones revisadas dentro de este estudio contemplan como materia de extracción tejidos de frutos, pétalos de flores, cereales, hortalizas, legumbres y tubérculos.

En la **Figura 9**, es posible ver que, en la muestra revisada, los frutos y las flores son las fuentes más estudiadas con el 48 y el 32% respectivamente, seguido en menor proporción por los cereales, las hortalizas y los tubérculos. Este resultado puede estar asociado a que en flores y frutos aquellas tonalidades dadas por la presencia de antocianinas como rojas, purpuras, azules, rosadas, entre otras, son más frecuentes y abundantes que en otros tipos de fuentes naturales.



**Figura 9.** Porcentaje de reporte por tipo de fuente de antocianinas en los estudios revisados n=124. Referencias ver en **Anexo 2**.

Con el objetivo de evaluar si la ubicación geográfica tiene una relación sobre la fuente de extracción de antocianinas, se realizó una revisión entre el país de estudio vs la fuente de extracción (**Figura 10**). Referente a algunos países latinoamericanos reportados, se observa como Chile y Brasil han trabajado en mayor proporción con los frutos. En el caso de Chile, es muy conocido por su abundancia en frutos rojos. Se encuentran reportes de estudios que destacan bayas nativas chilenas, las cuales son frutas pequeñas que carecen de semillas grandes y se puede comer entera, tales como

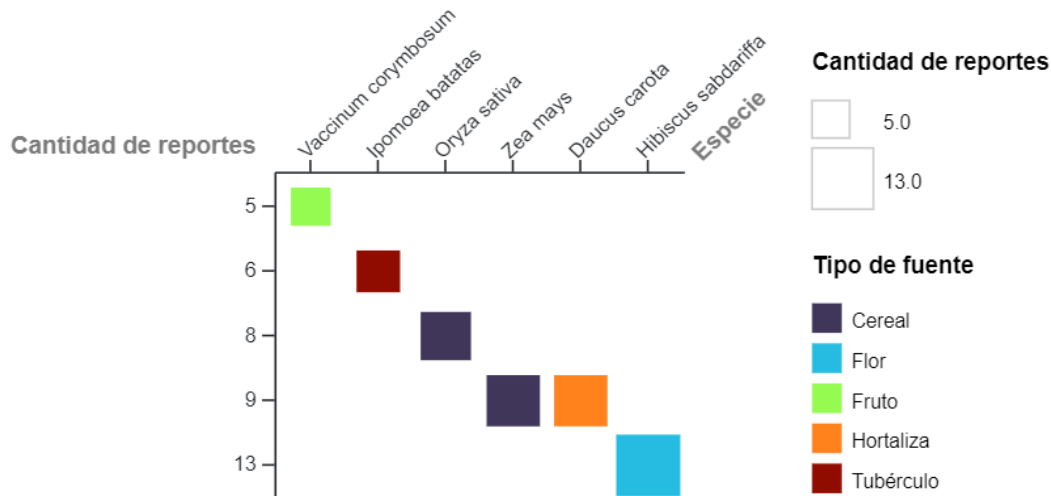


el arrayan, chequen, calafate, meli, maqui y murta, además del arándano, estos frutos han sido de gran interés por su contenido de antocianinas y poder antioxidante (Brito et al., 2014; Ramirez et al., 2015; Turcz et al., 2020). En cuanto a Brasil dentro de los frutos investigados se encuentran destacados *Jaboticaba pomace*, *Myrcia jaboticaba*, *Vitis labrusca*, *Punica granatum*, entre otros.

Con respecto a las flores, se puede ver que además de Estados Unidos y China, otros países asiáticos como Tailandia, India, Turquía, Irán y Malasia tienen la mayor proporción de investigaciones en flores. Esto se corrobora con un estudio previo realizado sobre las flores en donde se observa que la mayor cantidad de investigaciones se presentan en países asiáticos.

También se evidencia en la **Figura 10**, que Estados Unidos y China son los dos países que han estudiado más clases de fuentes de extracción y en su mayoría han sido frutos, flores y cereales. También se observa en menor proporción estudios para legumbres, hortalizas y tubérculos.





**Figura 11.** Relación de las 6 especies más reportadas en la muestra revisada. Adicional, se relaciona el color con el tipo de fuente vegetal (flor, cereal, tubérculo, etc) y el tamaño de los cuadrados con la cantidad de reportes por cada especie (5 a 13). Tipo de gráfico: gráfico matriz. n=49. Referencias ver en **Anexo 2**.

En esta **Figura 11**, puede observarse que la especie más estudiada es una flor, *Hibiscus sabdariffa* con 13 reportes, seguido por *Daucus carota* (hortaliza) y *Zea mays* (cereal), cada uno con 9 reportes, *Oryza sativa* con 8 reportes, *Ipomoea batatas* (Tubérculo) con 6 y *Vaccinium corymbosum* con 5 (fruto).

Se observa que al menos se tiene un representante de los grupos mencionados como fuentes de antocianinas en la **Figura 9**. Es de resaltar que a pesar de que los cereales de forma global fueron la tercera categoría en cuanto a cantidad de estudios, al revisar por especies, es el único que tiene dos representantes dentro de las seis especies más estudiadas, *Oryza sativa* y *Zea mays* (**Figura 11**).

En cuanto a las especies más reportadas puede asociarse por cada una a lo siguiente:

Los cálices de *Hibiscus sabdariffa* son conocidos por ser ricos en antocianinas, son usados ampliamente en Indonesia, Tailandia, México, Sudan entre otras, (Abou-Arab et al., 2011; de Moura et al., 2018) en productos como bebidas que promueven la salud por su alto contenido de antioxidantes. Esta planta tiene 1.5 g de antocianinas por 100 g de peso seco de cálices florales (Duangmal et al., 2008; Idham et al., 2012). En otra publicación se reporta una cantidad de antocianinas superior a 2.5g/ 100 g pesos seco (Sinela et al., 2017). Según Idham et al., (2012) puede ser usada como una fuente promisorio de color rojo brillante, además de considerarse una fuente económica (Abou-Arab et al., 2011). Las antocianinas más abundantes en esta especie son delphinidina 3-O- sambubiosido y cianidina 3-O- sambubiosido (Duangmal et al., 2008; Sinela et al., 2017).

*Daucus carota* ha sido ampliamente estudiada ya que tiene una característica muy importante a nivel de estabilidad y es su alto contenido de antocianinas monoaciladas con tres azúcares que aumentan la retención de color en el pH de los alimentos y también muestran una mayor estabilidad térmica (Assous et al., 2014). Tiene 168.7 mg antocianinas/100 g de base fresca. Sus mayores constituyentes son cianidin-3-xilosyl-glucosyl-galactoside acilado con ácido ferúlico (33.65%), cianidina-3-xilosyl-glucosyl-galactoside acilado con ácido cumárico (29.85%) y cianidina-3-xilosyl-galactoside (28.70%).

Se menciona que *Daucus carota* es una fuente considerada como buena opción para colorear jugos de frutas néctares, refrescos, jaleas y dulces (Assous et al., 2014).

*Zea mays* también se considera una especie abundante en antocianinas. Es considerada una fuente de bajo costo y tiene la opción de ser obtenida desde desechos para agregarles valor (Chen et al., 2018). (Yang & Zhai, 2010) menciona que tiene gran potencial para ser usado como colorante natural y antioxidante. Las antocianinas más abundantes en esta fuente son cianidia-3-dimalonilglucosido- cianidina-3-glucosido, pelargonididna-3-glucosido y peonidina-3-glucosido.

*Oryza sativa* conocida por ser fuente de antocianinas de color purpura oscuro. Contiene alrededor de 3.31 mg/g de antocianinas (Loypimai et al., 2015) y también se ha reportado como fuente promisoría de antocianinas a partir de cereales (Loypimai et al., 2016).

De *Ipomoea batatas* en varios países se han desarrollado cultivos por la demanda creciente de mercados saludables de las papas moradas. Se han desarrollado ya diferentes productos como colorantes naturales, pasta y harina purpura que se usan en jugos, pan, fideos y mermeladas. Algunos estudios han reportado que las antocianinas extraídas desde este tubérculo tienen buena capacidad antioxidante, anti mutagénica y que reduce la presión arterial alta (Truong et al., 2012).

*Vaccinum corymbosum* es un fruto rojo con amplia capacidad antioxidante (J. Lee & Wrolstad, 2004). Esta clase de frutos son reportados por la FAO (Food and Agriculture Organization) como uno de los 5 alimentos más importantes para la salud humana (Martyntenko & Chen, 2016).

Igualmente Wang et al., (2010) mencionaron que además de los beneficios para la salud también tiene un futuro interesante como colorante natural en alimentos. Se reporta que puede tener 25 antocianinas diferentes, las cuales en su mayoría son a partir de malvidina, delfinidina, petunidina y cianidina (Martynenko & Chen, 2016). El contenido de antocianinas puede ser desde los 25-495 mg/ 100 g (Wang et al., 2010).

### **5.3. Extracción de antocianinas: métodos**

La obtención de colorantes naturales inicialmente incluye una etapa de extracción a partir de una fuente (Zhang et al., 2018) y es una etapa clave en el resultado final en cuanto a la calidad del extracto obtenido (Azmir et al., 2013; Junior et al., 2014). Existen diversos métodos de extracción de antocianinas, algunos considerados como métodos convencionales y otros no convencionales. Los primeros se basan en el uso de diferentes solventes y la aplicación de temperatura y/o la agitación. En los no convencionales se habla del uso de enzimas, extracción asistida por microondas y ultrasonido y también el uso de fluidos supercríticos, entre otros (Vega et al., 2017).

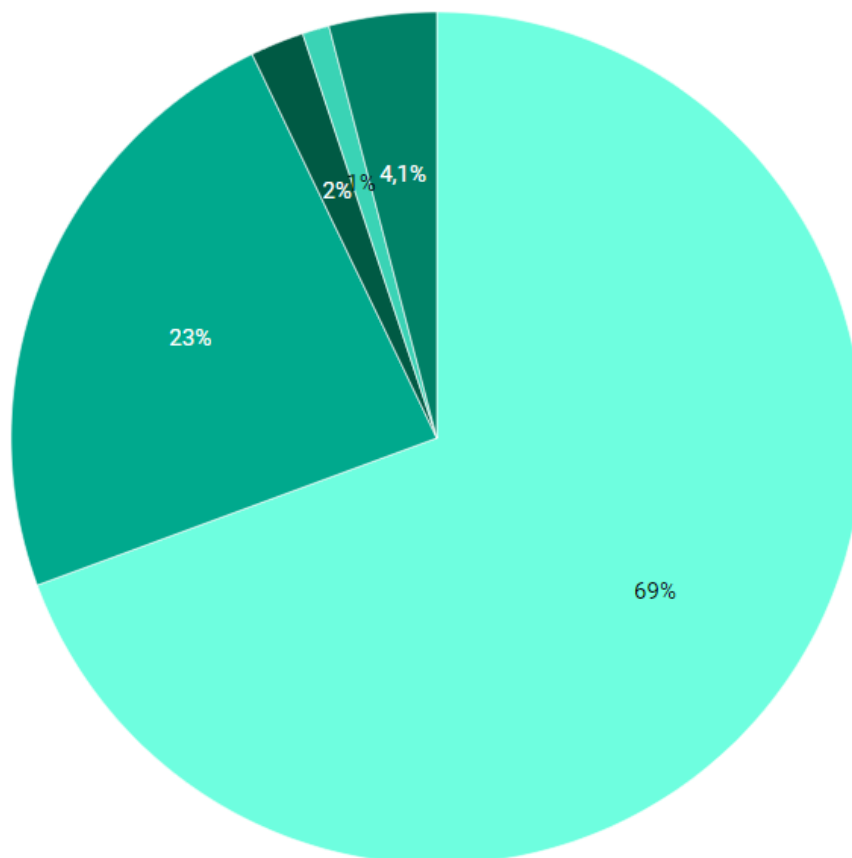
Según Mishra et al., (2012), los extractos ricos en antocianinas se obtienen generalmente mediante extracción sólido-líquido (tecnologías convencionales) que a menudo consume tiempo, energía y grandes cantidades de agua o solventes derivados del petróleo nocivos para el medio ambiente y además generando una gran cantidad de residuos.

La anterior es una de las desventajas encontradas en los procesos de extracción que también realiza la industria y es el uso de grandes cantidades de solventes orgánicos volátiles e inflamables, que afecta el rendimiento medioambiental y económico de la extracción global (Martins et al., 2019).

Estas desventajas han llevado a que se investigue y reporten tecnologías de extracción no convencionales, basadas en el uso recursos vegetales renovables y solventes alternativos que pueden permitir reducir las inversiones de energía, costos y tiempo (Vega et al., 2017). Algunos de los métodos no convencionales como la extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por enzimas, extracción asistida por microondas, extracción con fluido supercrítico y extracción con líquido a presión se consideran "técnicas ecológicas", ya que cumplen con los estándares establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU (Azmir et al., 2013).

En la **Figura 12**, se consolidan los métodos de extracción que fueron publicados en diferentes artículos científicos de la muestra revisada en este trabajo. La extracción por solvente es el método con mayor número de publicaciones con un 68 % de reporte seguido por la asistida por ultrasonido con un 23 %. Las demás tecnologías tuvieron un porcentaje de reporte menor al 2 %. Este resultado coincide con Zhang et al., (2018) y Zou et al., (2011) quiénes mencionan que la extracción por solvente es la más común para la obtención de antocianinas a pesar de ser una tecnología convencional.

Extracción con solvente    Asistida con ultrasonido    Asistida con microondas  
Extracción con líquido presurizado    Otros



**Figura 12.** Tecnologías de extracción reportadas para extraer antocianinas. n=95.

Referencias ver en **Anexo 2**.

De acuerdo con la **Figura 12**, es importante resaltar como se han venido desarrollando métodos no convencionales que además de buenos resultados a nivel calidad del extracto, también son conocidos por ser procesos respetuosos con el medio ambiente buscando la disminución del uso de solventes, tiempos de operación y uso de temperaturas elevadas (Azmir et al., 2013).



Estos métodos de extracción no convencionales en la muestra de las publicaciones revisadas han sido probados en la extracción de antocianinas desde frutos, flores y cereales (Aryanti et al., 2019; Babova et al., 2016; X. Ge et al., 2009; Loypimai et al., 2015; Machado et al., 2015; Nontasan et al., 2012). La extracción por ultrasonido es la tecnología más reportada de las no convencionales en la muestra de artículos revisada con un porcentaje de reporte del 23%.

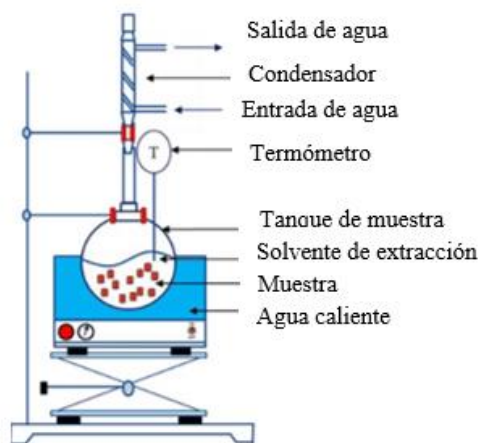
#### **5.4. Tecnologías de extracción objeto de estudio**

Con el objetivo de profundizar en las condiciones definidas en los métodos de extracción, se eligió que se va a profundizar sobre la extracción por solvente y en algunos puntos en la extracción por ultrasonido. Estas dos tecnologías fueron las más frecuentemente reportadas en la muestra revisada y por tanto aquellas de las que más datos se tienen para poder realizar comparaciones y evaluaciones. En el **Anexo 3** se encuentra la definición de los demás métodos de extracción reportados.

#### **5.5. Métodos de extracción convencional: extracción con solvente**

La extracción convencional es la más frecuente de las tecnologías de extracción (Castañeda-Ovando et al., 2009) e implica la difusión de los componentes del extracto de la planta a través de la pared de las células de tejidos de una matriz gracias a la combinación de diversos factores como el uso de solventes, temperatura, agitación, tiempo, etc (Adjé et al., 2010).

De acuerdo con Zhang et al., (2018), el proceso de extracción se da en 4 pasos, (i) el solvente penetra en la matriz sólida, (ii) el soluto se disuelve en el solvente, (iii) el soluto por difusión sale de la matriz sólida y (iv) y se da la recolección de los solutos extraídos. Los autores mencionan que cualquier factor que pueda mejorar alguno de los anteriores pasos facilitará el proceso de extracción. En la **Figura 13** un esquema de una de las opciones de proceso de extracción con solvente que podría darse (Bouras et al., 2015).



**Figura 13.** Esquema de un proceso de extracción por solvente. Tomado (Bouras et al., 2015).

A continuación, se irá revisando cada uno de los factores o condiciones relevantes en el proceso de extracción con solvente tales como, tipos de solventes y concentración usada, uso de ácidos, temperatura, tiempo, relación solido- líquido y se revisarán algunos resultados de estudios que buscaban evaluar la relación entre algunas de estas variables.

### **5.5.1. Solventes de extracción: generalidades**

El solvente usado y su concentración son de las condiciones de extracción que en el 100% de los artículos revisados reportaron. Esto se relaciona a que la influencia del o de los solventes usados y su concentración sobre la calidad de las antocianinas en el extracto ha sido comprobada (Arici et al., 2016; Martins et al., 2019). Los solventes buscan facilitar la liberación de las antocianinas desde las vacuolas y romper algunos enlaces con proteínas, polisacáridos y otros componentes para obtenerlas en sus estados libres en el extracto, por tanto, se requiere que el solvente elegido tenga una muy buena característica de accesibilidad (S. Silva et al., 2017).

Las características importantes para tener en cuenta en la elección del solvente pueden ser en dos direcciones, las que son propias del solvente y las que dependen de las condiciones de extracción. En el primer caso es importante considerar y conocer la (i) solubilidad, (ii) costo y (iii) que tan inocuo es el solvente (Zhang et al., 2018) y en el segundo caso se debe tener en cuenta (i) la matriz vegetal de extracción y (ii) las propiedades químicas del colorante a obtener (Martins et al., 2019).

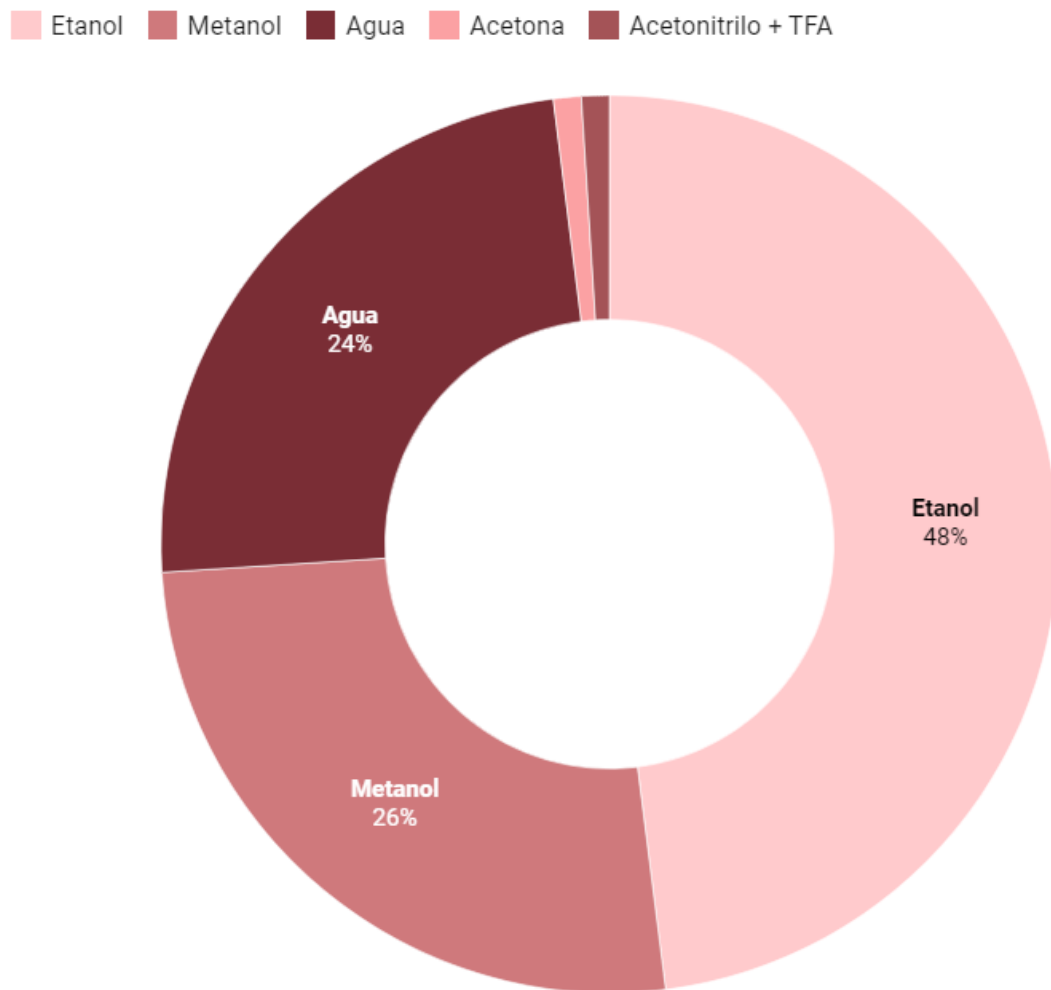
En cuanto a la naturaleza química del compuesto a extraer, es bien sabido que las antocianinas son compuestos hidrofílicos, con una buena solubilidad en solventes polares (Amelia et al., 2013); Vega et al., (2017) mencionaron que la afinidad entre la polaridad del solvente y el compuesto de interés juega un papel importante en los procesos de extracción. Así que, considerar el efecto del solvente seleccionado sobre

la solubilidad, la cinética de difusión y la transferencia de masa del compuesto a extraer es relevante.

### **5.5.2. Solventes usados**

Se reporta que para la extracción de antocianinas se pueden utilizar solventes como etanol, metanol, N-butanol, acetona fría, propilenglicol, mezcla de metanol, acetona y agua (Khazaei et al., 2016), pero según Castañeda-Ovando et al., (2009); Yamashita et al., (2017) y Yousuf et al., 2016), mencionan que el etanol, metanol y acetona son los más habituales. En esta revisión se encontró que efectivamente el etanol y el metanol fueron los solventes más usados en la extracción de antocianinas de distintas especies vegetales con un porcentaje de reporte de estos solventes de 48 y 26% respectivamente, seguido por agua (24%), acetona (1%) y acetonitrilo -TFA (1%) (**Figura 14**).

En cuanto a la diferencia del % de reporte del etanol vs metanol (48% vs 26% respectivamente), puede evidenciar el interés de algunos autores en preferir el uso del etanol sobre el metanol, ya que este compuesto es considerado como tóxico (Özgür & Çimen, 2018) y no incluido dentro de la denominación GRAS (generalmente considerado seguro).



**Figura 14:** Porcentaje de los solventes reportados en la muestra de artículos revisados para la extracción por solvente n=54. Referencias ver en **Anexo 2**.

El uso de etanol como solvente si es considerado seguro para la salud humana (Castañeda-Ovando et al., 2009; Khazaei et al., 2016; Özgür & Çimen, 2018). También se encontró que aproximadamente el 86 % de las publicaciones que reportaron metanol como solvente fueron publicadas antes del año 2011, y por otro

lado casi el 50 % de las publicaciones que usan etanol fueron publicadas después del año 2015, corroborando esto la tendencia de uso de etanol en los últimos años.

Otro hallazgo relevante está relacionado al uso de agua como solvente, ya que el 78 % de los estudios que usaron agua son de los años 2016 a 2020. Por tanto, son estudios más recientes evaluando un solvente amigable para el ambiente en el proceso de extracción de antocianinas. En el **Anexo 4** se podrá observar una figura en la que se muestra la relación evidenciada entre los años de publicación y los solventes usados.

### **5.5.3. Etanol**

En la revisión se evidenció que en las distintas metodologías reportadas la concentración de etanol fue usada en un amplio rango de concentraciones. Özgür & Çimen, (2018) menciona que la concentración de etanol varía de 10 al 90 % en diferentes estudios. En esta revisión se encontraron reportes de concentraciones de etanol acuoso desde 12.5 % hasta etanol sin dilución.

De este rango, la concentración del 50 % de etanol agua fue la más usada en el 33 % de los estudios revisados, seguida por la concentración de etanol sin diluir, con el 23 % de los reportes. También se reportan otras concentraciones (35%, 40%, 67.6 %, 70% 80%, 85 %, 96% y 98 %) pero estas no tienen un número de estudios representativo (de 1 a 2 reportes).

Khazaei et al., (2016) reportaron que a medida que se tiene una solución de etanol con mayor concentración, la polaridad de la solución disminuye y por tanto se reduce la solubilidad de antocianinas. Esta afirmación cuestiona el resultado obtenido del uso de etanol sin dilución en el 23 % de los estudios revisados.

Para complementar lo anterior, Özgür & Çimen, (2018) indica que para una mejor extracción con etanol es importante realizar una mezcla acuosa. Ellos vieron que concentraciones mayores a 80 % disminuía el rendimiento en la extracción. Esto lo asocian a que los grupos polares en la molécula de antocianinas no son fácilmente solubles en solventes no polares o en el caso del etanol, medianamente apolar.

#### **5.5.4. Metanol**

Al revisar las concentraciones usadas en los procesos de extracción con metanol en esta revisión, se evidencia que la concentración de uso de este solvente es al 100% o al 80%. No se evidencia un amplio rango de concentraciones a diferencia del uso del etanol. Según Castañeda-Ovando et al., (2009), la extracción de antocianinas con metanol es la más eficiente. Se reporta una investigación de extracción de antocianinas de pulpa de uva que la extracción con metanol es 20% más efectiva que con etanol y 73% más efectiva que solo agua (Castañeda-Ovando et al., 2009). Vega et al., (2017) también reportaron que el metanol fue el solvente con mejores resultados en la extracción de antocianinas a partir de pieles del fruto xkijit, esta prueba fue realizada haciendo mezclas con etanol y acetona y con etanol puro.

### **5.5.5. Agua**

Algunos autores mencionan que el agua es un solvente con una alta polaridad y poca fuerza para extraer polifenoles de las células (Liu et al., 2000). Sin embargo, un estudio realizado por Adjé et al., (2010) hizo una revisión de la extracción con 3 tipos diferentes de solventes, agua acidificada con ácido sulfúrico, agua acidificada con ácido cítrico y metanol agua con HCl. En esta revisión su variable de respuesta fue concentración de polifenoles y antocianinas y encontraron que los resultados fueron similares entre solventes. Adjé et al., (2010) sugieren el uso de agua acidificada sobre solventes metanólicos para escalar proceso de extracción.

En otra investigación, Aryanti et al., (2019) hicieron una comparación de la extracción de antocianinas a partir de una matriz de flores (*Hibiscus sabdariffa*) usando como solventes etanol sin diluir y agua. Ellos sostienen que los solventes altamente polares tienen mejor comportamiento para extraer compuestos polares que los solventes de baja polaridad.

### **5.5.6. Índice de polaridad de los solventes**

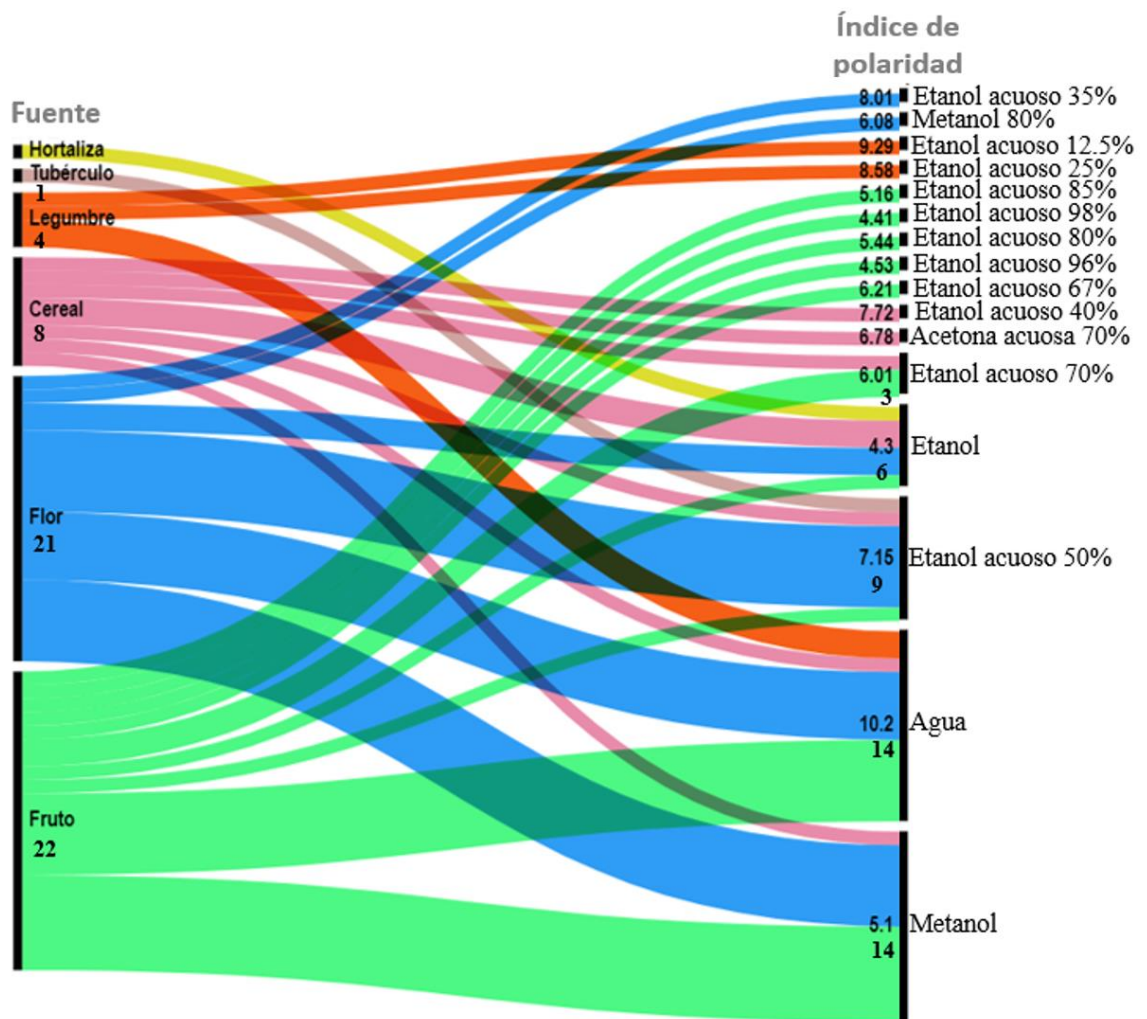
Como se revisó en cada una de las descripciones de los solventes más usados, la polaridad es una de las características más nombradas para definir qué tan bueno o no es un determinado solvente para extraer antocianinas. Esto partiendo de que el compuesto de interés es de característica polar.



A continuación, se citarán algunas de las afirmaciones realizadas sobre la polaridad del solvente en relación con la extracción en diferentes artículos (Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Liu et al., 2000; Mehmood et al., 2019; Özgür & Çimen, 2018):

- (i) Entre más polar sea el solvente es más efectivo.
- (ii) Un solvente altamente polar como el agua tiene poca fuerza de extracción de polifenoles (grupo al que pertenecen las antocianinas).
- (iii) Los grupos polares en la molécula de antocianinas no son fácilmente solubles en solventes no polares o medianamente apolares.
- (iv) Las antocianinas al ser hidrofílicas tienen muy buena solubilidad en solventes polares.
- (v) Las antocianinas al ser moléculas polares los solventes más usados son mezclas acuosas de etanol, metanol y acetona.

En este trabajo se usó el parámetro de Snyder  $P'$  (índice de polaridad) para hacer una relación entre los solventes usados y una escala de polaridad. Este índice mide la atracción intramolecular entre un soluto y un solvente, basándose en las medidas de solubilidad para la sustancia en cuestión. Dicho índice de polaridad se relacionó además con el tipo de matriz de extracción como se visualiza en la **Figura 15**.



**Figura 15.** Relación entre las matrices de extracción vs índice de polaridad de los solventes usados. Gráfico de Sankey. El tamaño de los rectángulos en las partes laterales del gráfico representa el valor de cada ítem. Los ítems con mayor valor hacia el menor están organizados de abajo hacia arriba. El tamaño de los flujos también representa el valor del ítem sobre la muestra de datos. En la parte derecha del gráfico se relaciona los solventes y las concentraciones que equivalen al índice de polaridad  $n=54$ . Los números en los nodos bajo cada ítem corresponde a su valor (número de reportes). Referencias ver en **Anexo 2**.

En la **Figura 15** es posible evidenciar que no se observa una relación entre las fuentes de extracción con los solventes usados o el índice de polaridad. Si se observa que los frutos tuvieron una tendencia a probar diferentes concentraciones de etanol sobre las flores que tuvieron concentraciones de etanol más limitadas.

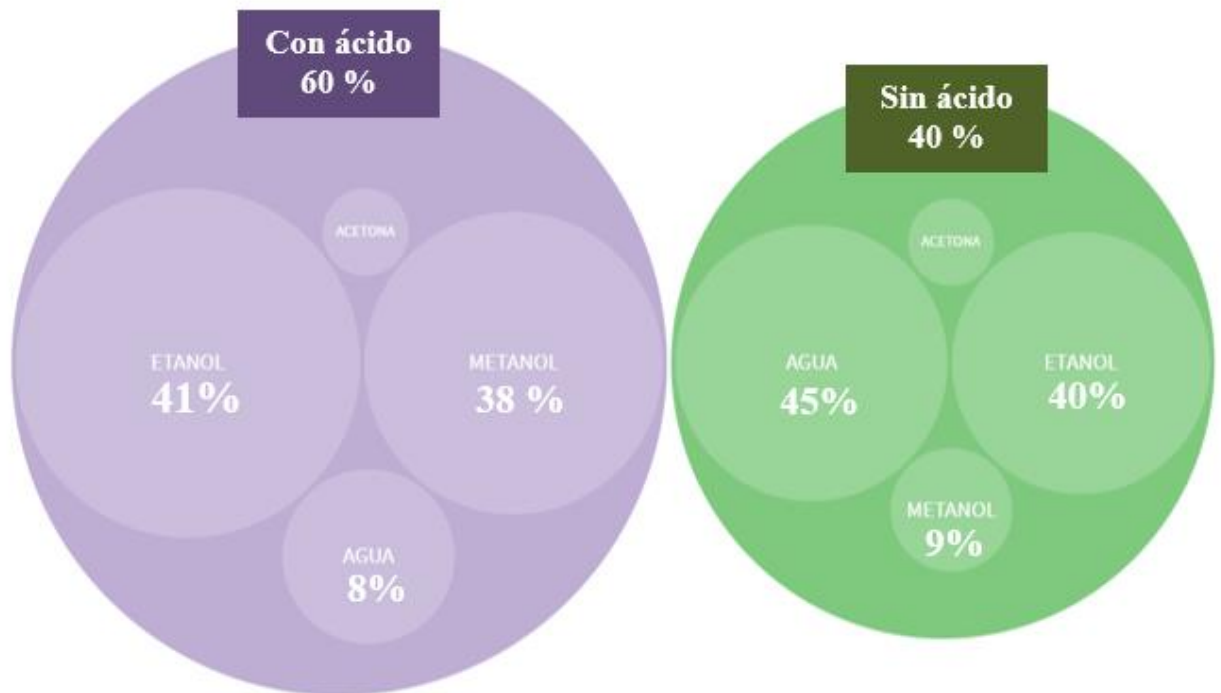
En cuanto al solvente más usado en la extracción, se evidencia que para frutos fue el metanol y para las flores con una diferencia más leve entre solventes fue el etanol al 50%. En cuanto al índice de polaridad se evidencia que está en un rango de 4.3 con etanol sin dilución y 10.2 con el agua. No se observó una relación entre el índice de polaridad vs los solventes más usados ya que estos tienen índices de polaridad muy diferentes (metanol 5.1, agua 10.2 y etanol acuoso al 50 % 7.1).

#### **5.5.7. Acidificación de solventes**

La adición de ácidos es comúnmente usada en la extracción de antocianinas. Abou-Arab et al., (2011) y Khazaei et al., (2016) reportaron que la adición de ácidos al solvente mantiene el pigmento estable en la forma de ion flavilio durante la extracción debido a su acción de reducción del pH.

Abou-Arab et al., (2011) además concluyeron en sus investigaciones que la adición de ácido al medio de extracción tuvo un efecto positivo en la estabilización de las antocianinas, por lo que aumentó la eficiencia de extracción y que el etanol acidificado ayuda a desnaturalizar las membranas celulares y simultáneamente disuelve las antocianinas y las estabiliza.

En la revisión realizada en este trabajo se encontró que al 60% de los solventes usados en los procesos de extracción se les adicionó un ácido orgánico o inorgánico y el 40% se trabajaron sin acidificación (**Figura 16**).



**Figura 16.** Porcentaje de procesos de extracción a los que se les adicionó un ácido vs a los que no (los dos círculos grandes del gráfico). Además, internamente dentro de cada círculo esta la relación de cuales fueron los solventes más o menos acidificados (círculo morado) o más o menos no acidificados (círculo verde). El valor dentro de cada relación estaba dado por el tamaño de los círculos. n= 52. Referencias ver en **Anexo 2**.

En la **Figura 16** se observa que los solventes más acidificados dentro del grupo de aquellos a los que se les adicionó un ácido fueron etanol con un 41 % y metanol con

un 38% y dentro del grupo de los no acidificados los solventes más reportados fue agua con un 40% de los reportes y etanol con un 40%.

Al revisar los solventes acidificados y los que no, no se logró encontrar una razón publicada por la que algunos investigadores no acidificaron, además de que el objetivo fuera investigar comportamientos de extracción sin acidificación

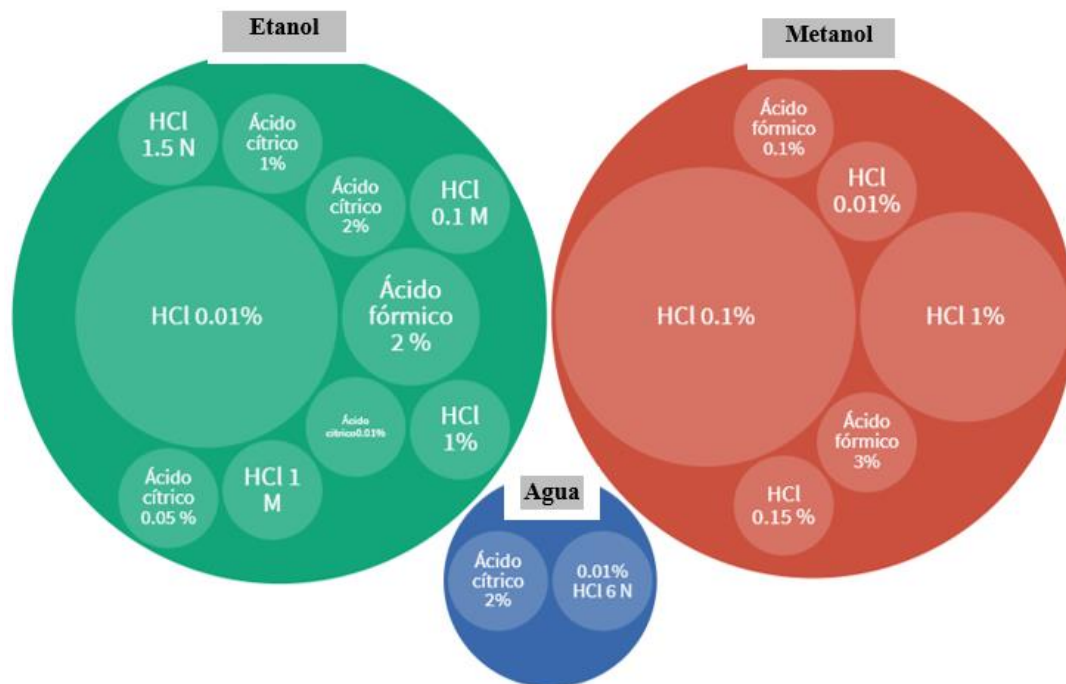
#### **5.5.8. Ácidos usados y su concentración**

0

Al igual que para los solventes, también hay un amplio espectro de ácidos y concentraciones reportadas para el proceso de extracción. La concentración adicionada de ácido al solvente debe ser decidida con atención ya que en exceso podría hidrolizar residuos lábiles, acilo y azúcar.

En este trabajo se encontró que el HCl es el ácido más reportado con un 61 % de participación, seguido por el ácido cítrico con un 27% y el ácido fórmico con un 12%. Otros ácidos como cítrico, tartárico, láctico y fosfórico fueron probados de forma puntual.

En la **Figura 16**, es posible ver por cada solvente los tipos de ácido y las concentraciones usadas en las investigaciones consolidadas y revisadas en este trabajo.



**Figura 16.** Ácidos usados por solvente de extracción. El gráfico incluye tres círculos, uno por cada solvente. Dentro de cada círculo se encuentran los ácidos y las concentraciones reportadas. El tamaño de los círculos indica el valor del ítem en la muestra. n=36. Referencias ver en **Anexo 2**.

En la **Figura 16**, fue posible ver que el HCl evidentemente se reporta en mayor proporción en todos los solventes, pero en diferentes concentraciones. Para el caso del etanol, se logra detectar una tendencia al uso de HCl 0.01 % y para el metanol concentraciones de HCl al 0.1 % y HCl al 1%.

El ácido cítrico se reporta en concentraciones desde el 0.01 % hasta el 2%, sin embargo, esto solo para el agua y para el etanol. No se encontró reportes del uso de

ácido cítrico en metanol en la muestra de investigaciones revisada. Del ácido fórmico se reportó su uso en concentraciones desde 0.1 % a 2%.

Abou-Arab et al., (2011) reportaron que, para aumentar el rendimiento de extracción de antocianinas, se recomienda el uso de ácidos orgánicos débiles (ácido fórmico, ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico y ácido fosfórico) y bajas concentraciones de ácidos fuertes, como 0,5-3,0% de ácido trifluoroacético y <1,0% de ácido clorhídrico lo cual coincide con los valores de concentración reportados.

#### **5.5.9. Uso de HCl**

El ácido clorhídrico, a pesar de ser el más reportado como se ha visto en los resultados anteriores, es conocido por tener propiedades corrosivas (Bayram et al., 2015). Algunos autores registran además que puede causar la deformación de las antocianinas como las citadas a continuación:

- Hidrólisis en condiciones ácidas durante la evaporación en un evaporador rotatorio ya que cuando se requiere un paso de concentración posterior al proceso de extracción. La concentración de antocianina en una solución aumenta debido a la eliminación del solvente de extracción, pero también lo hace la concentración de ácido y, por lo tanto, la hidrólisis de antocianinas puede tener lugar (Silva et al., 2017).

- Desacilación de antocianinas aciladas con ácidos alifáticos que pueden ocurrir a temperatura ambiente (Silva et al., 2017) .
- Pueden causar la hidrólisis de un enlace glicosídico lo cual tiene como resultado la liberación del azúcar de las antocianinas produciéndose una antocianidina más un resto de azúcar (Liu et al., 2000).
- Las antocianinas aciladas pueden degradarse (reacción de hidrólisis) y en el caso de las antocianinas de 3 monósidos, los enlaces glucósidos podrían destruirse (Abou-Arab et al., 2011; Castañeda-Ovando et al., 2009).
- Puede alterar la forma nativa de los pigmentos complejos al romper las asociaciones con metales o copigmentos (Abou-Arab et al., 2011)

#### **5.5.10.Comparación HCl vs otros ácidos**

Además de las limitaciones anteriormente nombradas para el uso de HCl, Padma & Dhara, (2011) reporta que a pesar de que el protocolo HCl- metanol es de los más empleados, se probaron más ácidos y esta combinación no fue la mejor para la extracción (Castañeda-Ovando et al., 2009)

Algunos otros estudios por el contrario evidencian que el HCl tiene mejores resultados. Abou-Arab et al., (2011) hicieron una revisión de la extracción usando dos solventes (etanol y agua) y dos ácidos (HCl y ácido cítrico). Los resultados de su estudio fueron que HCl fue más eficaz que el ácido cítrico. El etanol acidificado con HCl 1,5 N mostró la mayor influencia en la cantidad de antocianinas extraídas (1386 mg / 100 g de *Roselle* seca), seguido de una solución de ácido cítrico al 2% (1063 mg / 100 g



de *Roselle* seca) y etanol acidificado con ácido cítrico al 1% (693 mg / 100 g de *Roselle* seco). Mientras que el agua destilada extrajo solo 545,39 mg / 100 g de *Roselle* seco).

A pesar de lo anterior, para evitar o minimizar la descomposición de las antocianinas aciladas las cuales son conocidas por ser muy estables, se han preferido los ácidos orgánicos como el acético, el cítrico o el tartárico, que son más fáciles de eliminar durante la concentración de antocianinas (Abou-Arab et al., 2011). Además, se menciona, que en el ácido cítrico es menos corrosivo que el ácido clorhídrico, que los metales, mantiene un pH bajo y puede tener un efecto protector durante el proceso (Abou-Arab et al., 2011; Bayram et al., 2015).

Otros autores reportan sobre el uso de alternativas de HCl: ácido acético, cítrico (se reporta que tiene un efecto protector en las antocianinas) (Chen et al., 2018), fórmico o perclórico (Delgado-Vargas et al., 2010), teniendo en cuenta que los sistemas ácidos pueden disolver la citomembrana de la planta, así como los pigmentos solubles en agua facilitando la extracción (Chen et al., 2018).

#### **5.5.11. Soluciones sulfuradas**

Aunque el uso de soluciones sulfuradas (como el SO<sub>2</sub>) como agentes acidificantes en las publicaciones revisadas en este trabajo fue mínimo; se decidió que era relevante nombrarlo ya que algunos autores reportan que trabajar con este tipo de soluciones es viable e incluso más eficaz, dada la posible hidrólisis mediada por los ácidos (S. Silva et al., 2017), las limitaciones están relacionadas a que a pesar de no tener un riesgo

desde el punto de vista de inocuidad alimentaria (ya que es un conservante conocido) si puede generar reacciones adversas en individuos hipersensibles (S. Silva et al., 2017).

J. Lee & Wrolstad, (2004) realizaron un estudio de optimización de la extracción de antocianinas adicionando SO<sub>2</sub> y ácido cítrico a agua como solvente. Hallaron que la adición de SO<sub>2</sub> aumentaba la extracción de antocianinas. Esto lo atribuyen a que este compuesto disminuye la constante dieléctrica del agua lo cual permitiría una mejor extracción al aumentar la solubilidad de compuestos fenólicos. Adjé et al., (2010) reportó también un mejor desempeño para la extracción de antocianinas a partir de *Delonix regia* con el uso de agua con ácido sulfúrico que con ácido cítrico.

#### **5.5.12. Temperatura**

La temperatura es una de las condiciones más relevantes en el proceso de extracción. La baja estabilidad de las antocianinas a altas temperaturas, pero el aporte que también pueden dar al proceso de extracción evidencia que su definición debe ser muy cuidadosa para no afectar la efectividad y eficiencia del proceso (Khazaei et al., 2016).

Se conoce, que el aumento en la temperatura de extracción también incrementa el contenido de antocianinas en el extracto. Lo anterior se atribuye a que con el incremento en la temperatura también mejora la solubilidad y el coeficiente de difusión de las antocianinas (Arici et al., 2016; Castañeda-Ovando et al., 2009; Khazaei et al., 2016).

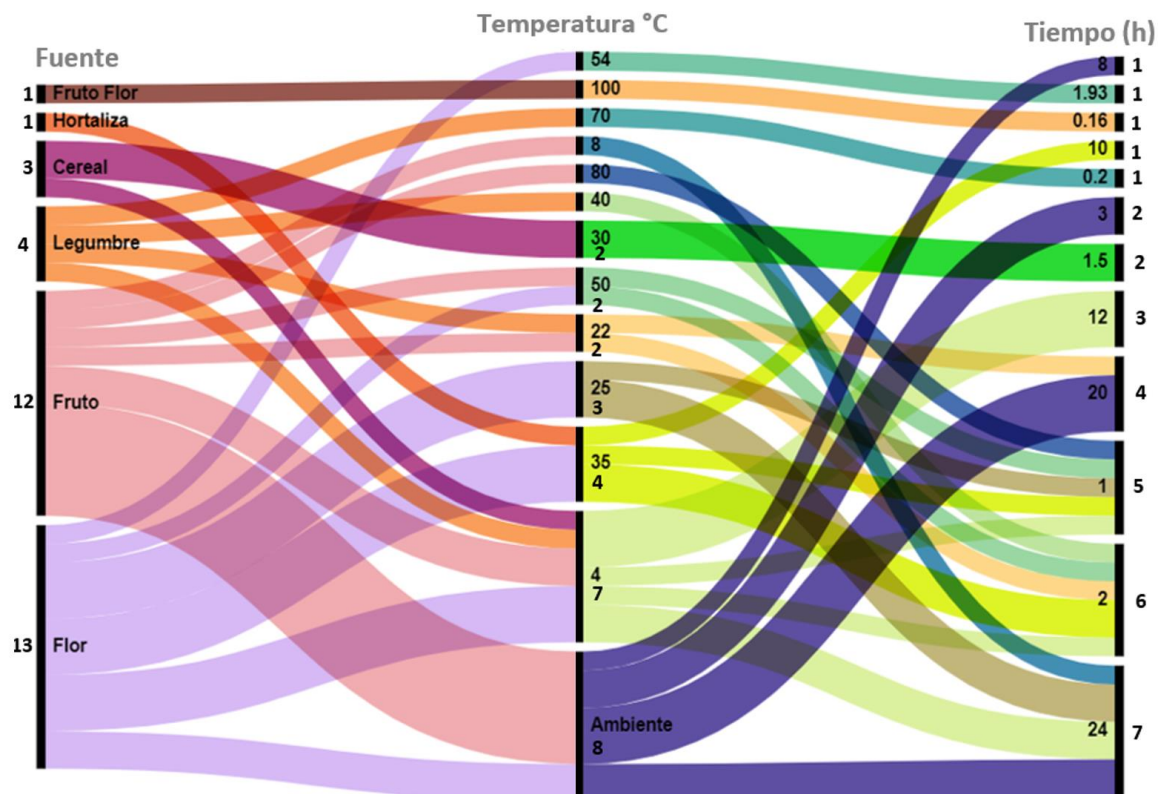
A nivel fisiológico, Mojica et al., (2017) reporta que debido a que las antocianinas se encuentran en las vacuolas y, a menudo, en el tejido de la piel de las fuentes de extracción, una temperatura alta podría ayudar a romper estas estructuras. Esto facilita la liberación de pigmento durante la extracción. Khazaei et al., (2016) también menciona que la temperatura alta ayuda a la desnaturalización de las paredes de las células vegetales facilitando la extracción.

De esta forma, un aumento en la temperatura de extracción es favorable, pero debe definirse cuál es ese valor óptimo en el que se obtiene el mejor rendimiento para no afectar la calidad del extracto. De lo contrario el deterioro de pigmentos en pigmentos poliméricos marrones o incoloros y la desaparición del color deseado del extracto es posible (Khazaei et al., 2016).

Algunas de las consecuencias que pueden darse tras un aumento en la temperatura es que la tasa de extracción empezará a disminuir. Con esto diferentes reacciones como degradación de las antocianinas y aumento de reacciones de hidrólisis y oxidación podrán tener lugar en el proceso (Castañeda-Ovando et al., 2009). También se reporta por Yamashita et al., (2017) que temperaturas demasiado altas puede provocar la pérdida de disolventes, lo que conduce a impurezas indeseables en el extracto (Khazaei et al., 2016).

### **5.5.13. Temperatura y tiempo**

En la **Figura 17** se definen las temperaturas que fueron consolidadas de las investigaciones revisadas en este trabajo. Estas temperaturas se relacionaron con el tiempo de extracción y la fuente. Se evidencia un amplio rango de temperaturas evaluadas desde 4 a 100 °C por diferentes tiempos desde 0.16 hasta 24 h (**Figura 37**).



**Figura 17.** Relación entre las temperaturas de extracción, fuente y el tiempo de proceso. Gráfico alluvial n=37. Los números en los nodos laterales e inferiores en el eje central corresponden a su valor. Referencias ver en **Anexo 2**.

No se evidencia una tendencia entre las fuentes de extracción y las temperaturas. Para frutos, flores y legumbres se evidenciaron temperaturas de extracción en rangos

bastante amplios, flores y frutos entre 4 °C a 100 °C, legumbres entre 4 °C y 70 °C y cereales entre 4 y 35 °C (**Figura 17**).

En cuanto a la relación de la temperatura con el tiempo si se muestra una tendencia. Para temperaturas de 4 °C a 25 °C los tiempos de extracción son más largos, entre 12 y 24 horas, con excepción de unas investigaciones puntuales que tuvieron tiempos de extracción de 1 y 2 horas. Por el contrario, las temperaturas más altas desde 40 °C a 100 °C los tiempos de extracción fueron más cortos, entre 0.16 a 2 horas. 70 y 100 °C evidenciaron los tiempos de extracción más cortos (**Figura 17**).

Adicional a lo anterior, se evidencia que las temperaturas más reportadas están entre 4 °C y 35 °C, siendo temperatura ambiente y 4°C la de mayor reporte y las más altas, 70, 80 y 100°C las de menos reporte (**Figura 17**).

Con estos resultados es posible ver que a pesar de que se reporta que la temperatura alta afecta positivamente la extracción, algunas investigaciones prefieren no causar posibles daños en las antocianinas y optan por temperaturas bajas y tiempos largos. Adicional es importante tener en cuenta que estos tiempos largos tienen efecto en el balance energético del proceso y en su eficiencia y es una de las razones por las que se trabajan en otros métodos que disminuyan tiempos de extracción.

#### **5.5.14.Relación solido - liquido**

La relación sólido líquido (S/L) hace referencia a la proporción de materia sólida (fuente de extracción) y solvente. Se reporta que esta condición afecta el parámetro de transferencia de masa también el cual es modificado de acuerdo con el volumen de solvente (Aryanti et al., 2019).

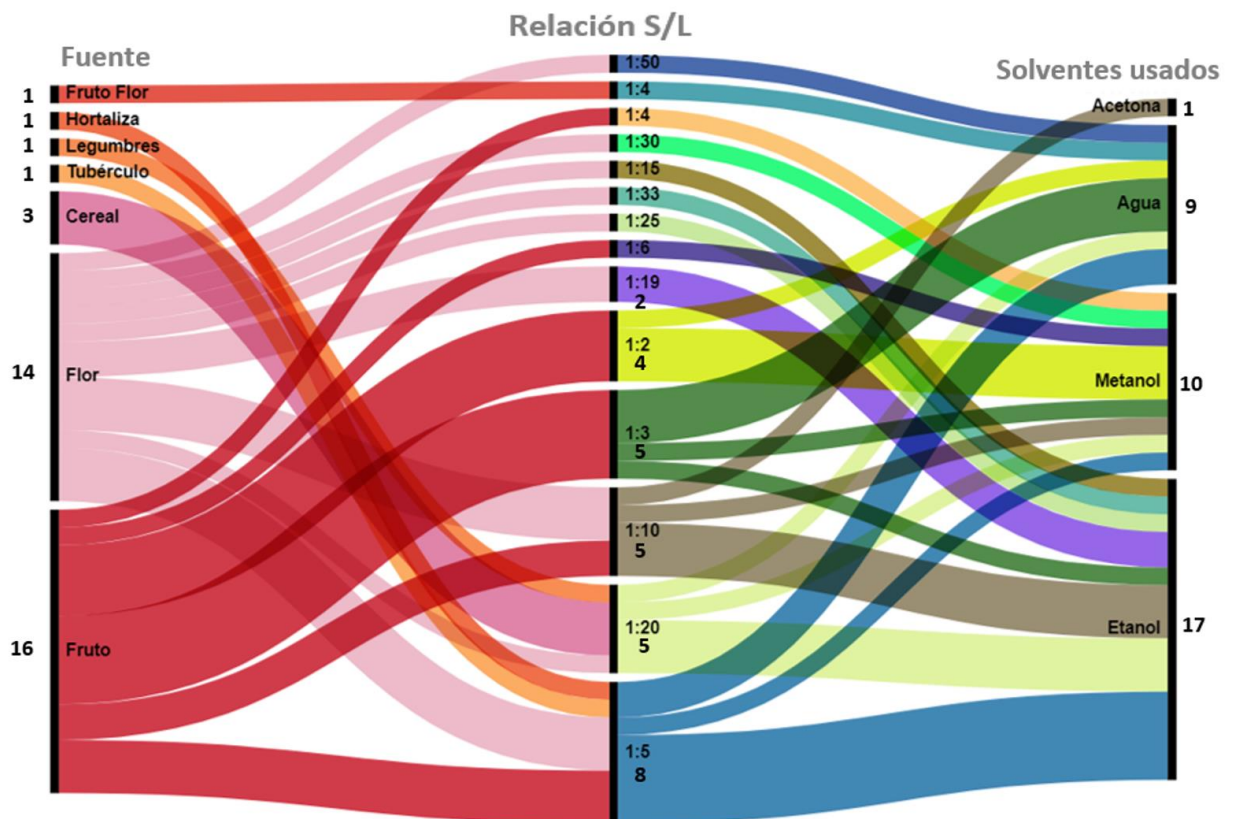
Aryanti et al., (2019) reporta que, al aumentar el volumen de solvente, los materiales extraídos disueltos serán más altos, dando como resultado un mayor rendimiento de extracción. La relación es la siguiente: a mayor volumen de solvente, se producirá una mayor transferencia de masa y una difusión más acelerada en el medio.

En las investigaciones realizadas se encuentra un amplio rango de valores de relación S/L de los procesos de extracción. En la **Figura 18** es posible ver las relaciones S/L que fueron consolidadas de las investigaciones revisadas en este trabajo. Estas relaciones S/L fueron evaluadas junto con la fuente de extracción que se usó y el solvente.

Se evidencia en la **Figura 18** relaciones desde 1:2 hasta 1:50 siendo la más reportada 1:5 con el 22 % de los datos. La siguen 1:20, 1:10 y 1:3. Se observa que las relaciones con mayor adición de solvente, tales como 1:15 a 1:50 (a excepción de 1:20) son las que tienen menos reportes.

Pinela et al., (2019) mencionaron que el volumen de solvente debe ser suficiente solo para disolver los compuestos objetivo y promover la transferencia de masa. A escala industrial, son deseables relaciones sólido / líquido (S / L) más altas para maximizar

el rendimiento de extracción con un consumo mínimo de solvente, haciendo así el proceso más productivo y sostenible.



**Figura 18:** Relación S/L vs fuentes de extracción y solventes usados. Gráfico alluvial. n=37. Los números en los nodos laterales y en la parte inferior del ítem corresponden a su valor (número de reportes). Referencias ver en **Anexo 2**.

No se evidencia una tendencia entre la fuente de extracción con la relación S/L, por el contrario, se evidencia la amplia variedad de opciones que han sido investigadas (**Figura 18**).

En cuanto a la relación con el solvente también puede verse la gran variedad de relaciones S/L investigadas, entre 6 y 8 para etanol, metanol y agua. Se observa una

leve mayoría para la relación de 1:5 en etanol, 1:2 en metanol y 1:3 en agua (**Figura 18**).

Özgür & Çimen, (2018) realizaron un experimento con 3 g de muestra usando varios volúmenes de la solución de extracción (1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60 y 1:80 g / mL). Encontraron que cuando la cantidad de solvente era demasiado baja, las antocianinas no se extraían. La eficiencia de extracción aumentó cuando la proporción de sólido a solvente aumentó de 1:20 a 1:40 g / mL y luego tendió a permanecer constante en las proporciones de 1: 40 –1: 80 g / mL. Desde un punto de vista económico, se encontró que la proporción de materia prima a disolvente de 1:40 g / ml era la más rentable.

#### **5.5.15.Optimización de variables**

En la **Tabla 3**, se evidencia un consolidado con 10 investigaciones. Cada una con las variables a analizar, los rangos evaluados y las condiciones óptimas elegidas. Entre los parámetros investigados y optimizados están el solvente, la concentración, el tipo de ácido, la temperatura, el tiempo y la relación S/L.



**Tabla 3.** Ensayos de optimización de condiciones de la extracción con solvente.

Número de ensayo	Matriz	Nombre	Variables	Condiciones evaluadas	Condiciones óptimas	Total, de antocianinas / rendimiento	Referencia
1	Fruto	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	Tipo de solvente	Agua destilada Metanol acidificado con HCl 0.01%	Metanol acidificado con HCl 0.01%	60.3 mg/100 g	(Kim et al., 2011)
2	Flor	<i>Crocus sativus</i>	Relación S/L Tiempo de extracción Temperatura Porcentaje de etanol	1:20, 1:50 y 1:80 8, 16 y 24 horas 25, 50, 75°C Etanol acuoso al 25, 50 y 75 %	1:20 24 h 25°C Etanol acuoso al 25,02%	1609.11 mg/L Basado en cianidina-3-glucosido	(Khazaei et al., 2016)
3	Flor	<i>Delonix regia</i>	Tipo de solvente Relación S/L	Agua con ácido sulfúrico Agua con ácido cítrico Metanol agua con HCl Relación S/L 1:250, 1:200, 1:100, 2:100 y 4:100	Medio de agua con ácido sulfúrico Agua con ácido cítrico 1/100	5.5 µmol g-1 equivalente cianidina 5.6 µmol g-1 equivalente cianidina	(Adjé et al., 2010)
4	Legumbre	<i>Frijol negro Phaseolus vulgaris L</i>	Solvente y concentración Temperatura Relación S/L	Agua Etanol al 12.5% con ácido fórmico al 2% Etanol al 25% con ácido fórmico al 2% Temperaturas evaluadas 4,22 y 40 °C Relación S/L 1:30, 1:40 y 1:50	Etanol 24 % ácido fórmico 29°C 1:40	32 mg /g DW Total antocianinas monoméricas	(Aguilera et al., 2016)

5	Flor	<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Acidificación	Metanol con HCl 0.1 % (v/v) Metanol con Ácido cítrico 4% (w/v)	Metanol acidificado con ácido cítrico 4%	166 mg/kg	(Padma & Dhara, 2011)
6	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Tipo de Solvente Relación S/L	Etanol o agua destilada 1:10 y 1:15 Etanol con 1.5 N/L HCl (85:15, v/v)	Agua destilada 1:15	nd	
7	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Tipo de solvente Acidificación	Etanol con 1% ácido cítrico. Solución de ácido cítrico al 2% en agua destilada	Agua acidificada con ácido cítrico 2 %	1063 mg/100g	(Abou-Arab et al., 2011)
8	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Tiempo Temperatura Concentración	55- 150 min 20-90 °C Etanol 0 - 100%	90 min 90 °C Etanol 50%		
9	Flor	<i>Tulipa gesneriana L</i>	Concentración de etanol Temperatura Tiempo	Etanol acuoso de 0 - 100% 25 - 55°C 30, 75 y 120 min	Etanol acuoso 35% 54 °C 116 min	Nd	(Arici et al., 2016)
10	Fruto	<i>Vaccinium angustifolium</i>	Temperatura Ácidos usados	7.7, 26 y 79 °C Acidificación (Solvente etanol) Sin ácido (pH 5.4) HCl (pH=4.1) Ácido Cítrico (pH=4,9) Ácido Tartárico (pH=5) Ácido Láctico (pH=4,8) Ácido fosfórico (pH=4,6)	79°C Ácido fosfórico.	28.9 mg/g Cianidina-3-glucosido eq/g DW	(Nicoué et al., 2007)

Es importante resaltar que se hizo un intento por consolidar datos que evidenciaran la calidad de las extracciones tales como rendimientos o total de antocianinas, sin embargo, debido a la variabilidad de las fuentes de extracción, las tecnologías y condiciones del proceso y las diferencias en las unidades de reporte de los resultados esto no fue posible (S. Silva et al., 2017). Por tanto, se decidió consolidar diferentes investigaciones de optimización de procesos de extracción que permitieran evaluar el efecto de diferentes variables sobre rendimientos y total de antocianinas por cada investigación de forma individual.

#### **5.5.16. Optimización del tipo de solvente**

Los ensayos 1,3, 4, 6 y 7 de la **Tabla 3** hicieron la evaluación del tipo de solvente. La elección del solvente óptimo fue a través de la comparación del valor de concentración de antocianinas o rendimiento entre los solventes propuestos.

En el ensayo 1 el solvente óptimo elegido fue metanol acidificado con HCl al 0.01%, en el ensayo 3 agua con ácido sulfúrico y agua con ácido cítrico. En el ensayo 4 se eligió etanol acuoso al 24% acidificado con ácido fórmico. En el ensayo 6 se eligió agua acidificada con ácido sulfúrico y en el ensayo 7 agua destilada con ácido cítrico al 2% (**Tabla 3**).

Con estos resultados es posible ver que de 5 ensayos 3 eligieron el agua acidificada como el solvente óptimo sobre otros solventes como metanol y etanol acidificado o no y por tanto demuestra la necesidad de realizar optimizaciones de solventes además de

tener información teórica al respecto. Esto teniendo en cuenta que como se revisó anteriormente el agua no es el solvente más recomendado por las investigaciones.

#### **5.5.17. Optimización de la concentración del solvente**

Los ensayos de optimización de concentraciones de solvente están enfocados en etanol como solvente. Posiblemente esto se debe a que en este trabajo se evidenció que la variabilidad en la concentración de solvente está asociada más en etanol que en metanol. De este último solo se reportó metanol sin diluir y metanol al 80 % por el contrario en etanol se reportaron concentraciones desde 12,5 % hasta etanol sin diluir.

Los ensayos 2, 4, 8 y 9 evaluaron diferentes concentraciones de etanol acuoso, 25 % y 75 % el ensayo 2, 12.5 y 25% el ensayo 4 y entre 0 a 100% en los ensayos 8 y 9. Los hallazgos fueron: para el ensayo 2 y 4, la concentración óptima fue de 25%, para el ensayo 8 etanol al 50% y para el ensayo 9 etanol al 35 % (**Tabla 3**).

Se observa que las concentraciones óptimas de etanol acuoso elegidas están en un rango de 25% a 50 %, no superando el 80 %, el valor en el que Özgür & Çimen, (2018) define empieza a disminuir el rendimiento de la extracción con este solvente.

Con los anteriores resultados también es posible confirmar la necesidad de optimizar condiciones de extracción. Se observa como el ensayo 8 y 9, que evaluaron de etanol de 0 a 100% encuentran resultados completamente diferentes entre los dos (**Tabla 3**).

Otras variables de extracción como la temperatura de extracción, el tiempo y el tipo de antocianinas también podrían influir (Arici et al., 2016).

Es importante tener en cuenta que los resultados a pesar de que se estén dando de forma individual por variable solvente, en los ensayos, otras condiciones como temperaturas y tiempos son diferentes y también pueden tener influencia en el resultado.

#### **5.5.18. Optimización de tiempo y temperatura**

Los ensayos 2, 4, 8, 9 y 10 evaluaron temperatura y el 2, 8 y 9 además de la temperatura también el tiempo de extracción. Las evaluaciones están desde un rango de temperatura de 4°C a 90 °C por un tiempo que puede ir desde los 30 minutos hasta las 24 horas (**Tabla 3**).

El tiempo más alto elegido como óptimo fue de 24 horas (ensayo 2) y fue para la temperatura más baja elegida, 25°C por el contrario las temperaturas más altas elegidas como óptimas tienen tiempos considerablemente más cortos, para 90 °C 90 minutos (ensayo 8) y para 54°C 116 minutos (ensayo 9) (**Tabla 3**).

Esto coincide con lo encontrado en la **Figura 15** donde se concluye que a temperaturas más altas tiempos más cortos y a temperaturas más bajas tiempos más largos de extracción. También se observa la variabilidad que se puede encontrar entre las condiciones óptimas elegidas.

Arici et al., (2016) reportaron que la temperatura y el tiempo son variables que afectan directamente la concentración de antocianinas, por tanto, su definición debe ser cuidadosamente estudiada. Arici et al., (2016) encontraron que el contenido de antocianinas de las muestras extraídas en diferentes condiciones tanto de temperatura como tiempo oscilaba entre 351 y 680 ppm y vieron que el aumento de la temperatura y el tiempo de extracción aumentaba el rendimiento de antocianina extraída.

#### **5.5.19.Optimización de la acidificación de solventes**

En el ensayo 10 se registró una optimización que tuvo en cuenta ácidos orgánicos e inorgánicos con diferentes valores de pH. Se evidenció que el ácido fosfórico tuvo mayor rendimiento que los demás, incluso sobre HCl. Este es uno de los ensayos que evidencia que en algunos casos es posible hacer un cambio en el ácido más frecuentemente usado y que no siempre es el que genera mejores resultados (Castañeda-Ovando et al., 2009; S. Silva et al., 2017).

Mojica et al., (2017) reportaron que el rendimiento de la extracción de antocianinas de arándano se vio notablemente afectado tanto por el tipo de ácido como por la temperatura de extracción. Por tanto, ellos mencionan que las antocianinas extraídas no se pueden explicar en términos de efectos separados de la temperatura y el tipo de ácido ya que observaron una interacción muy significativa entre estos dos parámetros.

En el ensayo reportado por Mojica et al., (2017) mencionaron que esta interacción fue lineal para las antocianinas. El efecto de la temperatura varió según el tipo de ácido para la extracción de antocianinas.

#### **5.5.20.Optimización relación S/L**

Esta variable fue optimizada en los ensayos 2, 3, 4 y 5 (**Tabla 3**). Se realizaron variedad de combinaciones y no en todos los casos la relación con mayor cantidad de solvente fue la que tuvo mayor rendimiento. Esto corrobora lo mencionado por Pinela et al., (2019) que debe evaluarse que la cantidad de solvente sea la cantidad necesaria y no se acepte un gasto innecesario sin realizar una evaluación previa.

#### **5.6.Extracción por ultrasonido**

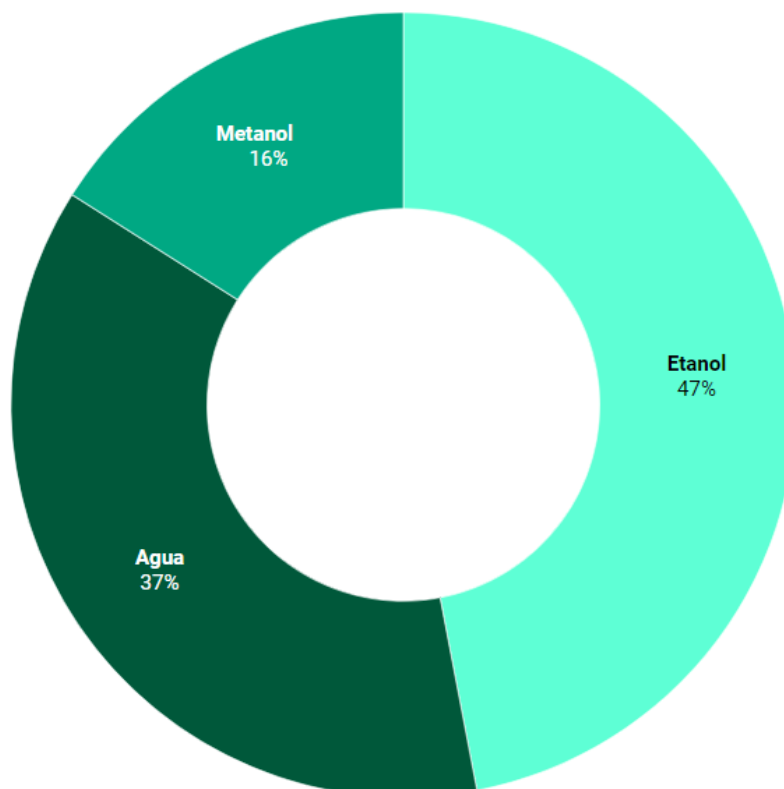
Se menciona por Golmohamadi et al., (2013) que la acción del ultrasonido es en 3 etapas, (i) romper las paredes celulares, (ii) difundir el solvente a través de la matriz celular y (iii) lavar el contenido celular. Sus beneficios son (i) dañar la pared de las células, (ii) aumentar la absorción del solvente en la célula y aumentar el rendimiento de extracción (Golmohamadi et al., 2013)

Para esta tecnología, las investigaciones pueden registrar las siguientes condiciones de operación: (i) solvente y concentración, (ii) ácidos para la acidificación del solvente, (iii) relación S/L, (iv) temperatura, (v) tiempo, (v) frecuencia y (vi) poder.

En esta sección, la mayoría de los parámetros se describirán puntualizando en la consolidación de los hallazgos en cuanto a las condiciones de experimentación anteriormente nombradas. Muchos de los principios tratados en la extracción con solvente aplican también en ultrasonido a excepción de la frecuencia y el poder que son tratados en este numeral.

### 5.6.1. Solvente

Al hacer la revisión de los solventes usados en las investigaciones por ultrasonido, se encuentra que el etanol y el agua fueron los más reportados con un 47 y 37 % respectivamente. El metanol los sigue con un 16% de los reportes (**Figura 19**).



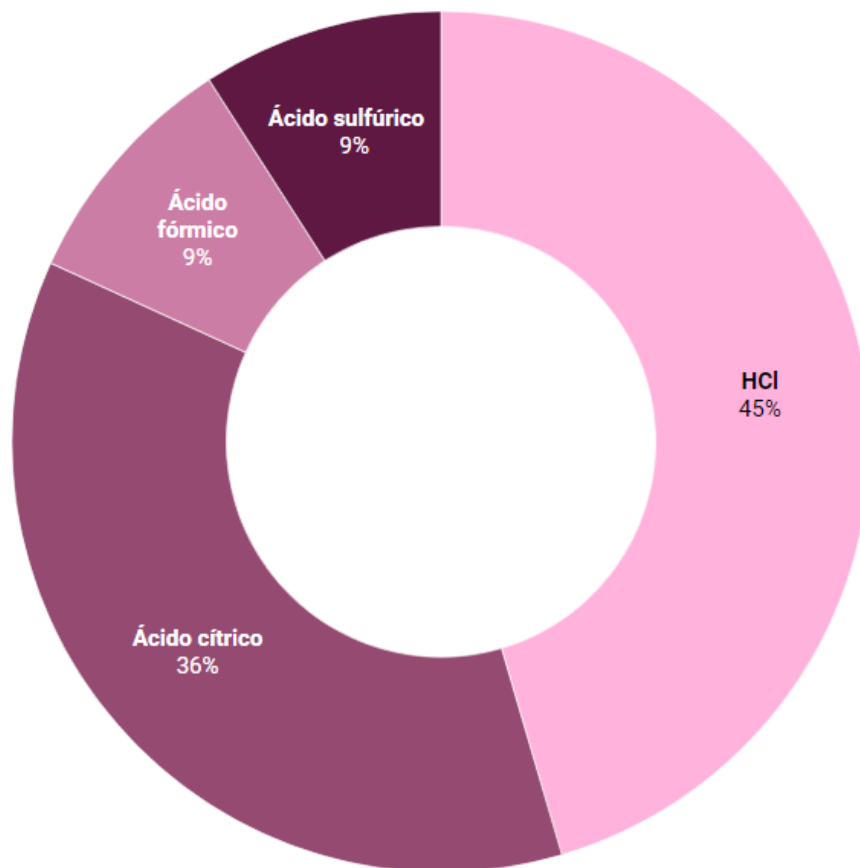
**Figura 19.** Porcentaje de participación de los solventes usados en las extracciones por ultrasonido. n=20. Referencias ver en **Anexo 2**.



Es importante resaltar de la **Figura 19**, como el agua se sobrepone sobre el metanol a diferencia que en la extracción con solvente. Lo anterior puede deberse a que debido al fenómeno y efecto sobre la extracción de la fuerza de cavitación es posible pensar en usar solventes mucho más amigables con el medio ambiente que en la extracción por solventes que requieren solventes con mayor poder de extracción.

Lo anterior no quiere decir que la elección del solvente sea menos importante en la tecnología por ultrasonido. Pero si es posible que la existencia del fenómeno de cavitación pueda facilitar la extracción y por tanto ser más viable usar agua como solvente.

Con respecto a la acidificación del solvente, al igual que en la extracción con solvente, HCl fue el ácido más usado en el proceso de extracción con un 45 % de participación (**Figura 20**). Ácido cítrico, ácido fórmico y ácido sulfúrico con un 36 %, 9% y 9% respectivamente también fueron reportados.



**Figura 20.** Porcentaje de reporte de ácidos en la extracción por medio de ultrasonido.

n=20. Referencias ver en **Anexo 2**.

### 5.6.2. Temperatura

Las extracciones por ultrasonido que registraron temperatura en la muestra de artículos revisada estuvieron en un rango entre 25 a 55°C. También Se tienen estudios de optimización puntuales en los que evaluaron temperaturas hasta 100 °C (Arici et al., 2016). Zou et al., (2011) mencionaron que, así como el aumento de la temperatura, la velocidad de difusión del disolvente y la intensificación de la transferencia de masa puede aumentar también la disolución de impurezas y la descomposición de moléculas termolábiles como las antocianinas también.

Se reportaron varias investigaciones que buscaban optimizar la temperatura en el proceso de extracción por ultrasonido. El ensayo 1, 2 y 3 (**Tabla 4**) evaluaron rangos de temperaturas desde 40 a 80 °C, 20 a 60 °C y 20 a 100 °C respectivamente. Para los ensayos 1 y 2 la temperatura óptima fue de 40 °C y para el ensayo 3 de 30 °C. El resultado podría explicarse por lo mencionado en la investigación de (Zou et al., 2011) que desde los 40 °C el rendimiento de extracción empezó a disminuir probablemente por la degradación de antocianinas.

Con los anteriores resultados también puede verse que las temperaturas reportadas en las optimizaciones de los procesos de ultrasonido y aquellas que fueron reportadas en las demás investigaciones no fueron mayores de 60 °C. Esto diferencia con la extracción por solvente en donde se encontraron temperaturas hasta 100°C (**Figura 17**).

### **5.6.3. Tiempo**

Esta es una de las variables que el ultrasonido mejora con respecto a la extracción por solvente. En esta revisión se encontraron reportes de investigaciones desde las 0,5 horas hasta 2 horas de extracción. Golmohamadi et al., (2013) reportaron que el tiempo en general usado por ultrasonido es de 10 a 60 minutos. En esta investigación el rango encontrado fue un poco más amplio.

**Tabla 4.** Optimizaciones de procesos de extracción por ultrasonido.

Número de ensayo	Matriz	Nombre	VARIABLES evaluadas	Condiciones evaluadas	Condiciones óptimas	Total de antocianinas / rendimiento	Referencia
1	Flor	<i>Clitoria ternatea</i>	Tiempo de extracción Temperatura Relación S/L	30, 45 y 60 min 40, 60 y 80 °C 1:5, 1:7.5 y 1:10 (w/v)	45 min 40 °C 1:10 (w/v)	Nd	(Salacheep et al., 2020)
2	Fruto	<i>Morus alba</i>	Tiempo de extracción Temperatura	20 – 100 min 20 – 60 °C	40 min 40 °C	64.70 ± 0.45 mg/g polvo	(Zou et al., 2011)
3	Flor	Pétalos de rosas rojas	Relación S/L Tiempo Temperatura	1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:60 y 1:80 (w/v) 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 °C	1:40 (w/v) 30 °C 15 min por 3 veces	320.4 mg antocianinas/100 g pétalos de rosa roja	(Özgür & Çimen, 2018)
4	Cereal	<i>Zea mays</i> L.	Tiempo Poder	20, 35, 50, 65 y 80 min 100, 200, 300, 400 y 500 W	35 min 400 W	3.625 ± 0.125 g /kg mg de cianidina -3-O-glucosido	(Chen et al., 2018)
5	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Tipo de solvente Relación S/L	Etanol Agua 1:10 y 1:15 (w/v)	Agua 1:15 (w/v)	Nd	(Aryanti et al., 2019)

Comparando este resultado del tiempo de extracción con la extracción por solvente, evidentemente los tiempos son mucho menores ya que para la segunda fueron reportados tiempos hasta por 24 horas (**Figura 17**).

Salacheep et al., (2020) reportaron que un aumento en el tiempo de extracción por ultrasonido puede ser perjudicial ya que puede degradar- destruir compuestos fenólicos. El tiempo además de ser importante en términos de rendimiento de antocianinas, es una condición que puede generar una disminución o aumento de costos de operación y eficiencia (Salacheep et al., 2020).

En varios estudios se ha visto como a pesar de obtener una mayor extracción con tiempos más largos de operación, eligen un tiempo menor, con buenos resultados y que además puede significar un ahorro en costos del proceso global (Salacheep et al., 2020).

Zou et al., (2011) realizaron una evaluación de la extracción de 20 a 100 minutos (**Tabla 4 ensayo 2**), encontraron que desde los 40 minutos el rendimiento de extracción era constante por tanto fue este el límite de tiempo seleccionado como óptimo. El rendimiento de extracción no aumentará así dure el proceso más tiempo si ya se llegó al equilibrio.

En la **Tabla 4** también se observa los tiempos evaluados entre 30 y 60 minutos en el ensayo 1 y entre 20 y 80 minutos en el ensayo 4, se escogió como tiempo óptimo entre los 35 y 45 minutos en ambos. También se reporta que si se supera el tiempo óptimo

en procesos ultrasonido pasado este tiempo pueden empezarse a degradar las antocianinas disminuyendo su cantidad y calidad (Salacheep et al., 2020).

#### **5.6.4. Relación S/L**

En cuanto a la relación S/L, al igual que en la extracción convencional, también se reporta que a mayor volumen de disolvente se aumentará la eficiencia de extracción (Aryanti et al., 2019). Adjé et al., (2010) mencionaron que la relación sólido-líquido tuvo una influencia significativa en el rendimiento de extracción de antocianinas. Con el aumento del volumen de extracción, el total de antocianinas de salvado de maíz morado aumentó gradualmente.

En la **Tabla 4** en los ensayos 1, 3 y 4 se realizaron estudios de optimización de la relación S/L. En el ensayo 1 se evaluó 1:5 a 1:10 y 1:10 fue elegida como óptima. En el ensayo 3 se hizo una amplia evaluación desde 1:10 hasta 1:80 y la relación escogida fue 1:40 y en el ensayo 4 se evaluó 1:5 y 1:10 eligiendo esta última como óptima. En esta comparación es posible ver la importancia de la optimización de las variables y ojalá en rangos amplios de prueba. Se observa que el ensayo 1 y 4 eligieron su máxima relación probada ya que no tenían opciones mayores, por el otro lado en el ensayo 3 que evaluó un rango más amplio se eligió una relación intermedia (**Tabla 4**).

#### **5.6.5. Frecuencia y poder**

Estas dos condiciones no fueron reportadas en todas las investigaciones revisadas. Y de aquellas en las que se reportaron sus condiciones estuvieron en un rango de:

- Frecuencia 20 kHz a 40 kHz

- Poder de 100 a 500 W

Golmohamadi et al., (2013) reportaron que generalmente la extracción por ultrasonido usa frecuencias de 20 kHz a 40 kHz lo cual coincide con el hallazgo en esta revisión. Se observa en la **Tabla 4** que solo se tuvo una optimización para la variable de poder en el ensayo 4 en un rango de 100 a 500 W y la condición elegida como optima fue de 400 W.

Los autores mencionan que se demostró que la potencia de la energía ultrasónica tiene efecto sobre el total de antocianinas las cuales pueden destruirse en condiciones de alta potencia. Su evaluación mostró además que el total de antocianinas tuvo un aumento al incrementar el poder desde 100 a 400 W y su degradación se observó a una condición de 500 W.

#### **5.6.6. Ultrasonido vs extracción convencional**

Son varios los reportes que hacen la comparación de la eficacia del ultrasonido vs los métodos convencionales y varias publicaciones reportan que el ultrasonido puede ser más efectivo, amigable con el medio ambiente y económico que el método convencional (Aryanti et al., 2019; Chen et al., 2018; Mehmood et al., 2019).

Una de las principales causas de lo anterior ya fue revisada y es el fenómeno de cavitación. Además Mehmood et al., (2019) reportaron un dato interesante y es que

en el proceso de extracción una capa de solvente rodea la superficie de la matriz de extracción y esto actúa como barrera de difusión durante el proceso; esta capa no puede romperse en la extracción convencional, pero puede romperse o eliminarse bajo la influencia del colapso de la burbuja de cavitación durante la extracción ultrasónica.

A pesar de lo anterior, en la **Tabla 5** se resumen algunos estudios que compararon ambas tecnologías (ultrasonido y extracción con solvente asistida como temperatura) y muestra en algunos casos como el ultrasonido no tuvo los mejores resultados.

En la **Tabla 5** se reporta además que, aunque en la extracción con solvente y en la extracción con ultrasonido se compartan parámetros relevantes como tipo de solvente, concentración, temperatura y tiempo, las condiciones pueden variar entre una y otra tecnología debido al fundamento de cada una.

Un ejemplo es dado en la investigación realizada por Leichtweis et al., (2019) que se observa en la **Tabla 5 ensayo 1**. Ellos compararon la extracción con solvente asistida con calor vs la asistida con ultrasonido en *Prunus spinosa* L. Los parámetros evaluados fueron concentración de solvente, tiempo y temperatura. Los hallazgos fueron: extracción con solvente asistida con calor requirió un tiempo de 49 minutos, etanol al 50 % y una temperatura de 90 °C para obtener un rendimiento del 50.89%. La extracción asistida por ultrasonido obtuvo un rendimiento de 68.60 % con 5 min de proceso, etanol al 47,98 % y 400 W de poder. No se reportó temperatura para este último **Tabla 5 ensayo 1**.



**Tabla 5.** Comparación extracción por ultrasonido y extracción por solvente asistida por calor.

Número de ensayo	Matriz	Nombre	Tecnología de extracción	Variables evaluadas	Condiciones evaluadas	Condiciones óptimas	Conclusión	Referencia
1	Fruto	<i>Prunus spinosa</i>	Asistida por temperatura	Tiempo Temperatura Concentración de solvente	5 – 85 min 20 – 90 °C Etanol 0 – 100 %	Nd	Mejor rendimiento extracción asistida por ultrasonido	(Leichtweis et al., 2019)
			Ultrasonido	Tiempo Poder Concentración de solvente	5 a 25 min 100 – 400 W Etanol acuoso de 0-100%	5 min 400 W Etanol 47% v/v		
2	Fruto	<i>Arbutus unedo</i>	Asistida por temperatura	Tiempo Temperatura Concentración de solvente	1 – 150 min 30 – 90 °C Etanol 0 – 100 %	5 min 90 °C Etanol 80 %	Mejor rendimiento en extracción asistida por temperatura	(López et al., 2018)
			Ultrasonido	Tiempo Poder Concentración de solvente	3 a 25 min 100 – 500 W Etanol acuoso de 0-100%	27.6 min 243.7 W Etanol 59.9 %		
3	Fruto	<i>Myrciaria jaboticaba</i>	Ultrasonido	Tiempo Poder Concentración solvente	5-25 min 100 – 500 W Etanol 0 – 100 %	24.44 min 500 W Etanol 34.47 % v/v	Mejor rendimiento en extracción asistida por temperatura	(Albuquerque et al., 2020)
			Asistida por temperatura	Tiempo Temperatura Concentración de solvente	5 – 85 min 20 – 90 °C Etanol 0 – 100 %	21.8 min 47.1 °C Etanol 9.1 % v/v		

En la anterior investigación es evidente que con ultrasonido se obtuvo un mejor rendimiento a un menor tiempo y sin la necesidad de usar temperatura para el proceso. Esto lleva a un mejoramiento en los rendimientos, costos de proceso y al uso de una tecnología más amigable con el medio ambiente (Leichtweis et al., 2019).

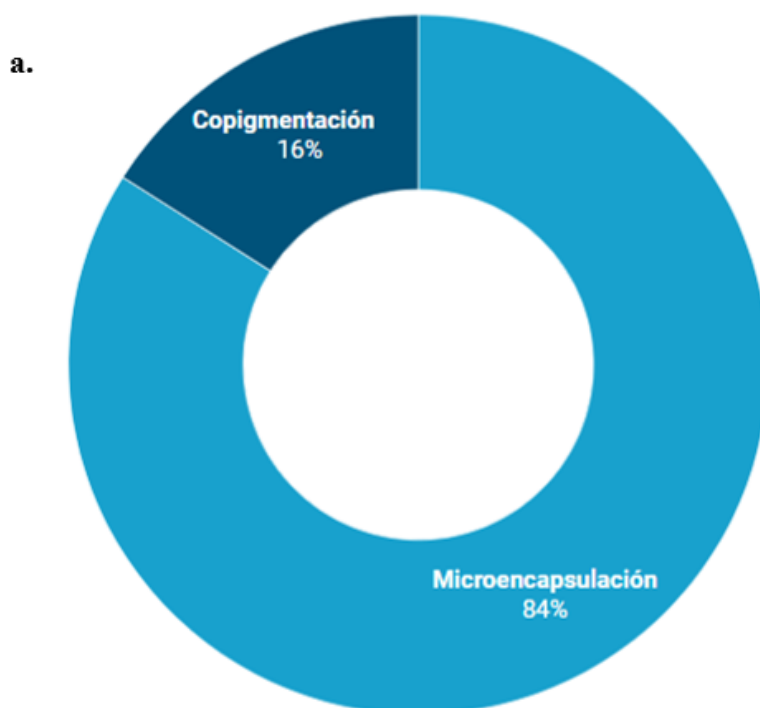
López et al., (2018) también hicieron una comparación y optimización de extracción por ultrasonido vs extracción con solvente asistida por calor (5 min, 90 °C y etanol al 80% acidificado) en *Arbutus unedo* (**Tabla 5 ensayo 2**). En esta investigación el resultado fue contrario al anterior y la tecnología asistida por calor tuvo mejores resultados en cuanto al rendimiento de la extracción de antocianinas.

Los autores mencionan que esto pudo estar asociado a que la eficacia del ultrasonido puede ser muy baja cuando los compuestos objetivo o los solventes son no polares o cuando son volátiles, adicional de que los compuestos pudieron degradarse durante la extracción. Las condiciones óptimas de extracción por ultrasonido fueron 27.6 min, 243.7 W y etanol al 59 % (**Tabla 5 ensayo 2**).

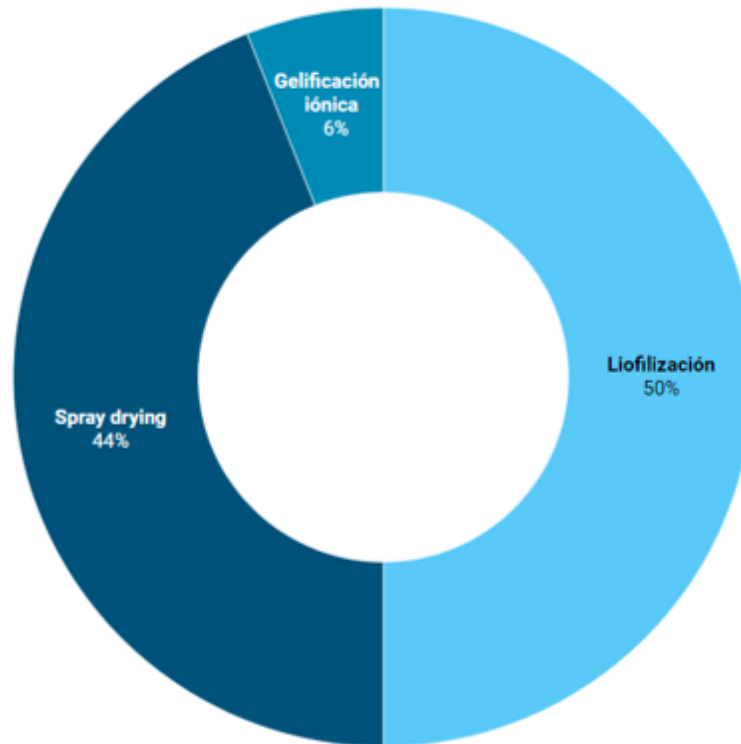
Los resultados anteriores muestran la importancia de realizar una comparación entre métodos para asegurar que si sea el más efectivo para el tipo de fuente de extracción y/o las condiciones planteadas. Un ensayo similar se realizó por Albuquerque et al., (2020) (**Tabla 5 ensayo 3**) en el epicarpo de *Myriciaria jaboticaba* y también se obtuvo un mayor rendimiento en la tecnología de extracción asistida por calor.

### 5.7. Estabilización de antocianinas

En la **Figura 21 a** es posible ver algunas de las tecnologías más reportadas en la muestra de investigaciones revisadas. La microencapsulación notablemente es la más reportada con un 84% de los reportes, seguido por la copigmentación con un 16%. En cuanto a las tecnologías de microencapsulación más reportadas, en la **Figura 21 b** se observa que el secado por aspersion y la liofilización son las técnicas más frecuentemente usadas (Yu & Lv, 2019). Guan & Zhong, (2015) y Yousuf et al., (2016) reportan que el secado por aspersion, la liofilización, la gelificación iónica, coacervación y la gelificación térmica son las más usadas para estabilizar antocianinas.



**b.**



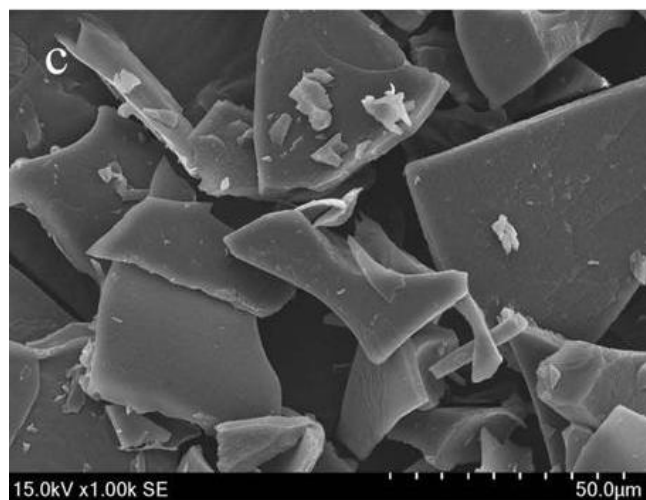
**Figura 21.** A. Tecnologías de estabilización de antocianinas reportadas en las muestras de artículos revisada y **b.** Tecnologías de microencapsulación más reportadas. n=59. Referencias ver en **Anexo 2.**

### **5.7.1. Microencapsulación**

### **5.7.2. Liofilización**

Idham et al., (2012) y Jafari et al., (2016) mencionaron que la liofilización es uno de los métodos preferidos para estabilizar pigmentos sensibles a la temperatura a pesar de ser 30 – 50 veces más costoso que el secado por aspersion. Esta técnica promueve la deshidratación de la mezcla congelada de materiales de pared y material a encapsular por medio de la sublimación bajo vacío y bajas temperaturas (Jafari et al., 2016).

En cuanto a la morfología de las micropartículas liofilizadas estas se observan como una estructura de vidrio roto en diferentes tamaños. Es una estructura considerada vítrea de forma irregular (**Figura 22**). Este tipo de estructura podría ser positiva para la protección de las antocianinas al calor y al oxígeno (Yamashita et al., 2017).



**Figura 22.** Micrografía de antocianinas de *Rosa rugosa* encapsuladas por liofilización con maltodextrina y goma arábica como material de pared (1000X) (Yu & Lv, 2019).

Además de lo anterior, se conoce que las partículas obtenidas desde la liofilización son de gran tamaño y Yamashita et al., (2017) reportaron que esto se debe al proceso de baja temperatura y a la falta de resistencia necesaria para romper las gotas congeladas o alterar la superficie durante el secado. Adicional menciona que el tamaño podría afectar la solubilidad ya que una mayor solubilidad se relaciona con tamaños de partículas más pequeños.

### 5.7.3. Condiciones de operación

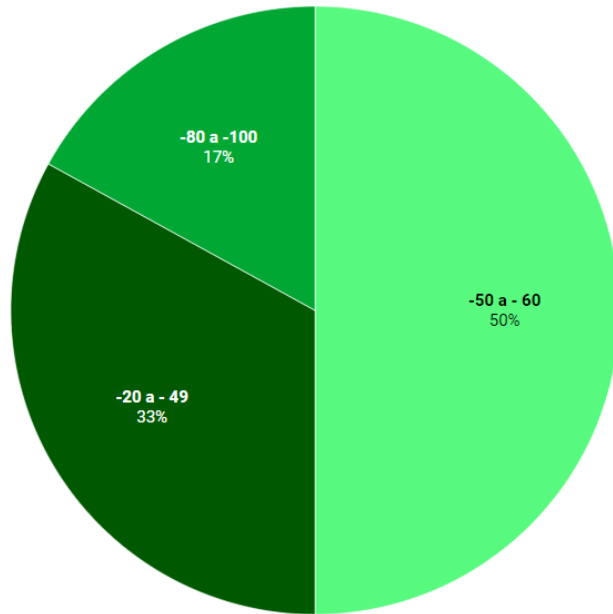
Al igual que para la extracción de antocianinas, existen dentro de esta tecnología diferentes métodos que varían en sus condiciones de operación. Algunas de las condiciones que son relevantes y varían entre una investigación y otra son la temperatura y tiempo de liofilización, los agentes encapsulantes, la relación entre estos con el compuesto a encapsular, si existe o no congelación previa de la muestra y algunos también reportan la presión en el proceso.

Las temperaturas de liofilización reportadas en los estudios revisados están en un rango entre -20 a -100 °C estando el 50% de los datos en temperaturas entre -50 y -60 °C como se ve en la **Figura 23a**. Por su parte, el tiempo de liofilización se encontró en un rango entre las 15 y las 96 horas, estando el 46 % de los datos reportados entre 15 y 25 horas y también con el 46% los datos entre 40 y 50 horas (**Figura 23b**).

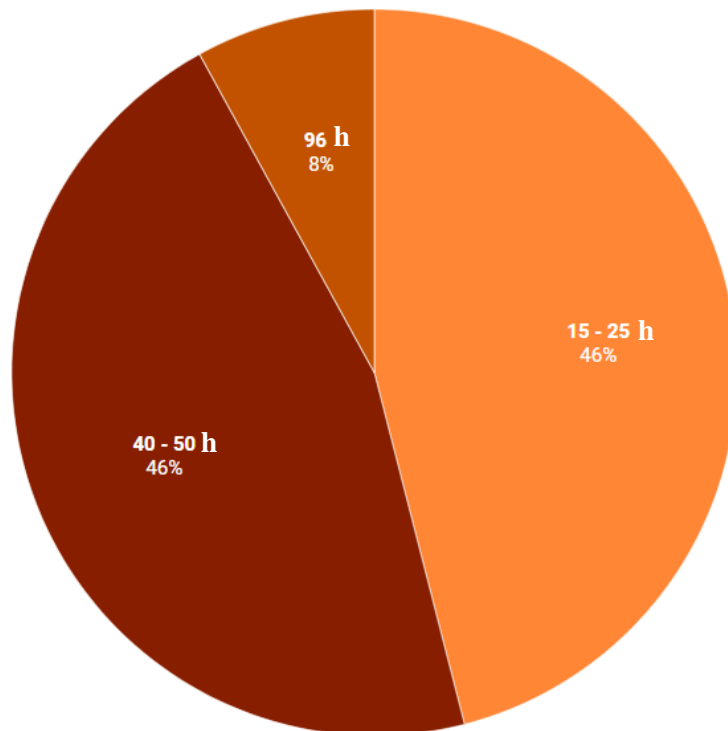
En los estudios revisados no se encontraron optimizaciones de la liofilización en sus condiciones de operación tales como tiempo, temperatura o presión. Las optimizaciones estaban más enfocadas en los agentes encapsulantes, su proporción vs el material a encapsular, combinaciones de materiales de pared, etc.

En esta sección del trabajo de acuerdo con lo anterior, se realizará una revisión de los agentes encapsulantes en la liofilización entendiendo que fue la información en la que más se enfocaron los estudios consolidados.

a.



b.



**Figura 23.** Relación de las condiciones de liofilización reportadas en los estudios revisados a. temperatura de liofilización y b. tiempo de liofilización n=15. Referencias ver en **Anexo 2**.

#### 5.7.4. Agentes encapsulantes

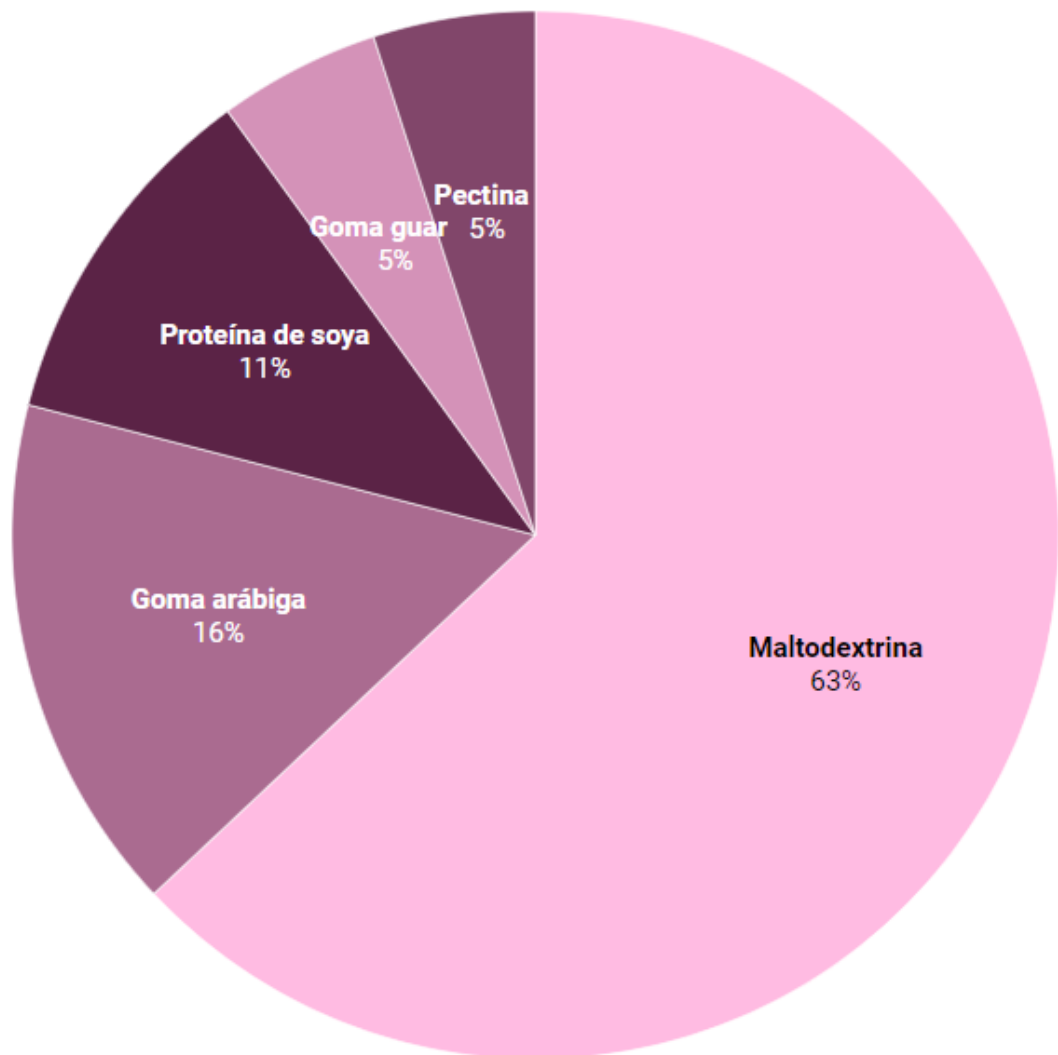
Quizá una de las condiciones más importantes en el diseño de la encapsulación por su impacto directo en la eficiencia de encapsulación y la estabilidad de las microcápsulas (Yamashita et al., 2017).

Para la elección de estos compuestos debe tenerse en cuenta información como: (i) capacidad de formación de película, (ii) biodegradabilidad, (iii) viscosidad, (iv) costo (v) naturaleza química de la matriz en la que se aplicará y del compuesto a encapsular y (vi) función esperada de las microcápsulas en dicha matriz (Jafari et al., 2016; Yamashita et al., 2017). Ejemplo, para bebidas se prefiere que los materiales de pared tengan baja viscosidad y que sean solubles en agua.

Entre los agentes encapsulantes para antocianinas en el proceso de liofilización, la goma arábiga y la maltodextrina se utilizan con mayor frecuencia debido a su propiedad emulsionante, dispersabilidad, alta solubilidad y baja viscosidad (Yu & Lv, 2019). Yousuf et al., (2016) también reportaron para la liofilización la maltodextrina y goma arábiga como los más usados.

En la **Figura 24** pueden verse los materiales encapsulantes más empleados de acuerdo con las investigaciones revisadas. Efectivamente la goma arábiga y la maltodextrina fueron los más reportados con un 63% y 16 % de participación. La proteína de soya, la goma guar y la pectina los siguen con un 11%, 5% y 5% respectivamente.





**Figura 24.** Porcentaje de participación de los encapsulantes más reportados para el proceso de liofilización. n=23. Referencias ver en **Anexo 2**.

Algunos estudios se han enfocado en buscar nuevas alternativas de agentes encapsulantes como Jafari et al., (2016) que hicieron una investigación para encapsular antocianinas a partir de *Crocus sativus* con un hidrocoloide extraído de semillas de berro (**Tabla 6 ensayo 1**).

**Tabla 6.** Optimizaciones y pruebas realizadas en el proceso de liofilización.

Número de ensayo	Matriz	Nombre	VARIABLES INDEPENDIENTES	CONDICIONES EVALUADAS	CONCLUSIÓN	REFERENCIA
1	Cereal	<i>Oryza sativa</i> L.	Fuente de maltodextrinas Efecto de valor DE	Maltodextrina a partir de arroz partido DE 10 DE20 DE30 Maltodextrina de tapioca DE 10	Maltodextrina DE=20 tuvo mejor rendimiento.	(Laokuldilok & Kanha, 2015)
2	Flor	<i>Crocus sativus</i>	Fuente de agente encapsulante	Agentes encapsulantes probados: Maltodextrina DE20 y DE7 Goma arábica (GA) Hidrocoloide de semillas de berro (CSG)  Combinaciones ensayadas: DE20-CSG GA-DE20 DE20-DE7 DE20	El hidrocoloide a partir de semillas de berro puede ser una buena opción para ser material de pared de acuerdo con los resultados obtenidos.	(Jafari et al., 2016)
3	Fruto	<i>Rubus spp.</i>	Agente encapsulante	Maltodextrina DE 10 Maltodextrina DE20	El DE no tiene influencia en la solubilidad y el diámetro. A mayor DE el contenido de humedad disminuye y menor retención de antocianinas. DE 10 arrojó una menor higroscopicidad. Puede estudiarse para ser usado como colorante natural esta fuente de antocianinas.	(Yamashita et al., 2017)
4	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Agente encapsulante Relación agente encapsulante extracto	Maltodextrina DE10 Trehalosa 2-3 g /100 ml	La maltodextrina a una concentración de 3g/100 ml de extracto evidencia un mejor comportamiento. Puede estudiarse para ser usado como colorante natural	(Duangmal et al., 2008)
5	Fruto	<i>Jaboticaba pomace</i>	Material de pared	Maltodextrina Aislado de proteína de soya Pectina	El mejor comportamiento fue con maltodextrina sin ninguna combinación. Es posible obtener colorantes naturales microencapsuladas desde este fruto/	(Pereira Souza et al., 2017)

Las semillas de berro absorben agua rápidamente y producen grandes cantidades de mucílagos o resinas con altos pesos moleculares. Algunas de sus características podrían favorecerlo como material de pared como bajos costos, propiedades reológicas adecuadas para el procesamiento de alimentos y capacidad de formar geles estables (Jafari et al., 2016).

Esta investigación buscaba comparar dicho hidrocoloide con otros agentes encapsulantes y determinar si era viable su uso (**Tabla 6 ensayo 1**). De las conclusiones del ensayo se obtiene que si es viable usar el hidrocoloide de semillas de berro como agente encapsulante (Jafari et al., 2016).

#### **5.7.5. Materiales de pared más usados**

Como se revisó anteriormente, los materiales de pared más usados son maltodextrina, goma arábica y proteína de soya según la muestra de estudios revisados. A continuación, hablaremos de cada uno dejando de últimas a la maltodextrina debido a que de esta se encontró más información.

##### **5.7.5.1. Goma arábica**

La goma arábica es un exudado de polisacárido vegetal incoloro natural de acacia. Es un material de pared eficaz y ha sido usado por muchos años (Cheng et al., 2017). Es un hetero polímero de azúcares altamente ramificado, que contiene una pequeña cantidad de proteína unida covalentemente a la cadena de carbohidratos, que actúa

como un excelente agente formador de película y, por lo tanto, tiene una muy buena capacidad para atrapar la molécula encapsulada (Mahdavi, et al., 2016). Además, tiene baja viscosidad, es soluble en agua, tiene una gran habilidad de formar emulsiones estables y estar en un amplio rango de condiciones iónicas y de acidez (Guan & Zhong, 2015).

A pesar de estas propiedades, en los últimos años debido al alto precio, su inaccesibilidad e impurezas, la aplicación de goma arábiga ha disminuido. Los investigadores están tratando de usar AG en combinación con otros materiales de pared o reemplazarlo por completo con otros biopolímeros. Mahdavi, et al., (2016) realizaron una investigación y encontró que la mejor eficiencia de encapsulación en sus estudios fue la combinación de goma arábiga con maltodextrina.

#### **5.7.5.2. Proteína de soya**

Consiste principalmente en subunidades de glicina y  $\beta$ -conglucina y ha sido ampliamente utilizado en la industria debido a sus costos, alto valor nutricional y buen funcionamiento. Mansour, et al (2015) reporta que un estudio que tuvo una retención de antocianinas de 36 % por tanto proponen combinar el aislado de proteína de soya con goma arábiga para mejorar sus resultados. En este estudio encontraron eficiencias de encapsulación desde el 93.05 al 98.87 %. Se probó aislado de proteína de soya y goma arábiga de forma individual y en combinación.

### 5.7.5.3.Maltodextrina

Algunos autores nombran la maltodextrina como el agente encapsulante más común lo cual es contrastado con el resultado evidenciado en la **Figura 24**. Hay varias características que lo favorecen como su alta solubilidad en agua, baja viscosidad y bajo contenido de azúcar (Mahdavi, et al., 2016; Yamashita et al., 2017).

Fuentes de maltodextrinas existen varias como las obtenidas a partir de tapioca o jarabes de maíz. Algunas investigaciones han buscado estudiar otras fuentes que además permitan agregar valor a algunos subproductos agrícolas. Laokuldilok & Kanha, (2017) hicieron una evaluación y comparación de maltodextrina DE 10, DE 20 y DE30 obtenidas a partir de las fracciones de arroz partido vs una maltodextrina comercial de tapioca. Los resultados de su investigación sugieren que es posible usar esta nueva fuente de maltodextrina (**Tabla 6 ensayo 2**).

A continuación, se revisarán algunas investigaciones con maltodextrina para mostrar en casos aplicados su acción y efectos. Los estudios para revisar son relacionados con:

- El efecto del valor DE de la maltodextrina usada en la microencapsulación.
- Investigación de la dosificación de maltodextrina al extracto y la comparación con otro material de pared
- Adición de maltodextrina en combinación con otros materiales de pared a través de dos investigaciones.

#### 5.7.5.4. Efecto del valor DE en la microencapsulación por liofilización

Comenzando con la revisión del efecto DE o equivalente de dextrosa de las maltodextrinas, es importante saber que este es una medida de hidrólisis del almidón a azúcares reductores. Dextrosa pura tiene un valor DE 100 y el del almidón es 0 (Nayak & Rastogi, 2010).

En algunos estudios se ha evaluado el valor de DE sobre las microcápsulas o sus propiedades. En la **Tabla 6 ensayo 3** hay un ejemplo y es posible ver una comparación entre la maltodextrina DE 10 y DE 20 y su relación con diferentes características como total de antocianinas, higroscopicidad y contenido de agua (Yamashita et al., 2017). Este ensayo fue realizado con antocianinas extraídas de *Rubus spp.*

Los autores encontraron (**Tabla 6 ensayo 3**) (Yamashita et al., 2017) que la MD con un DE más bajo tiene un porcentaje más alto de oligosacáridos de cadena larga por lo que tiene un peso molecular más alto. La maltodextrina DE20 es más hidrolizada y al tener mayor número de ramificaciones con grupos hidrofílicos, absorben fácilmente agua afectando resultados de higroscopicidad y por tanto las reacciones de una posible degradación. Adicionalmente en la **Tabla 6** se puede visualizar las conclusiones sobre el tamaño, la solubilidad y el contenido de agua.

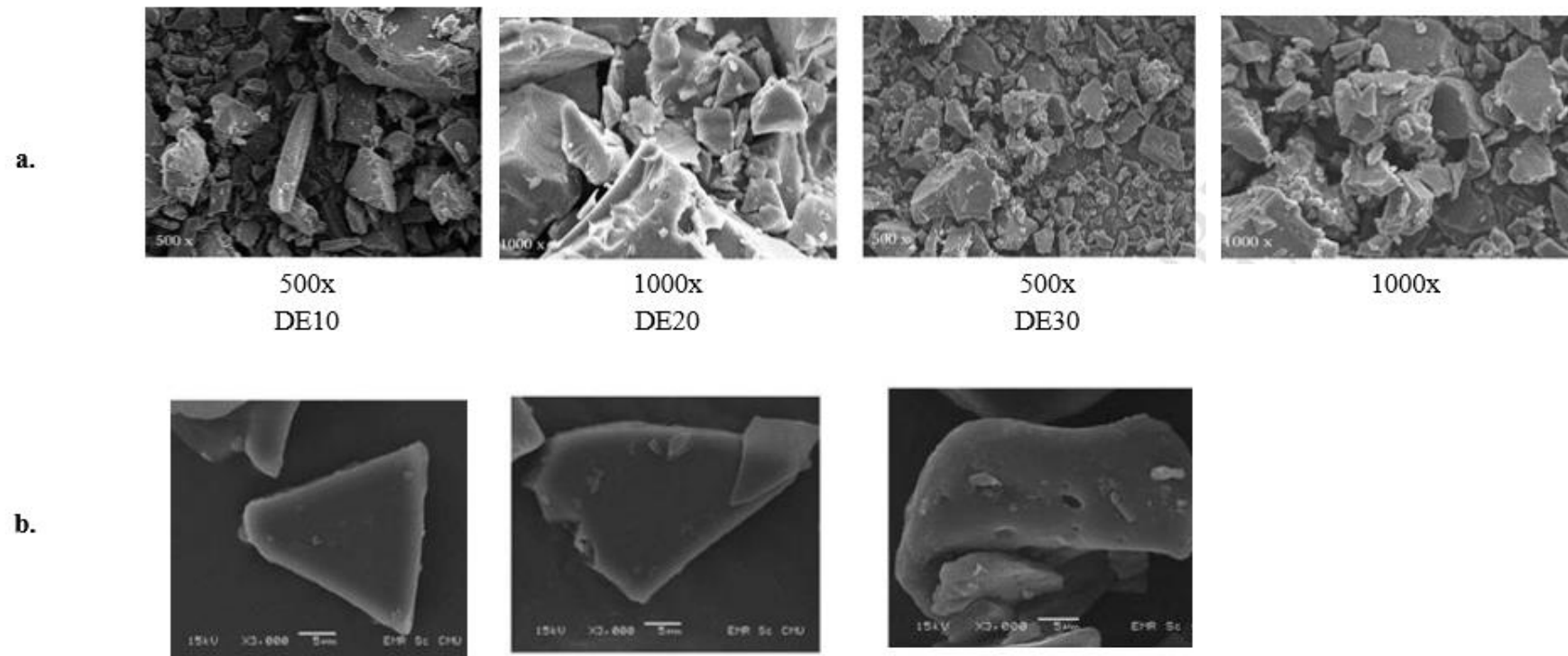
El valor DE también podría tener efectos sobre la morfología de los polvos liofilizados. En la **Figura 25a** se observa la comparación de polvos liofilizados con maltodextrina

DE 10 y DE 20 como materiales de pared. Los tamaños de partícula oscilaron entre 7 – 127  $\mu\text{m}$ . Los autores reportan que las muestras con DE 20 tiene partículas más pequeñas que las muestras con DE 10 sin embargo, las diferencias no fueron significativas (Yamashita et al., 2017).

En otro estudio reflejado en la **Figura 25b** donde compararon la morfología de partículas liofilizadas con DE10, DE20 y DE30 observaron que las estructuras son similares de forma irregular entre los diferentes DE, pero se evidenció que a un DE 30 se mostraron las superficies un poco más colapsadas. Este ensayo fue a partir de antocianinas extraídas de *Oryza sativa L* (Laokuldilok & Kanha, 2017).

#### **5.7.5.5. Dosificación de maltodextrina al extracto**

En la Tabla 6 ensayo 4, se evaluó maltodextrina DE 10 y trehalosa, ambas aplicadas a una concentración de 2 y 3 g/100 ml de extracto para encapsular antocianinas a partir de cálices de *Hibiscus sabdariffa*. En este ensayo se encontró que la maltodextrina tuvo un mejor resultado que la trehalosa y que además se tuvo una mayor protección aplicada a 3 g/100 ml de extracto. Este estudio sugiere que el resultado podría deberse a la capacidad de la maltodextrina para reducir la movilidad de los reactivos.



**Figura 25.** Micrografías de la encapsulación por liofilización con maltodextrina de diferentes valores de DE de antocianinas de a. *Rubus* spp. (1000X) y b. *Oryza sativa* L (3000X) (Laokuldilok & Kanha, 2017; Yamashita et al., 2017).



#### **5.7.5.6. Efecto combinación de agentes encapsulantes**

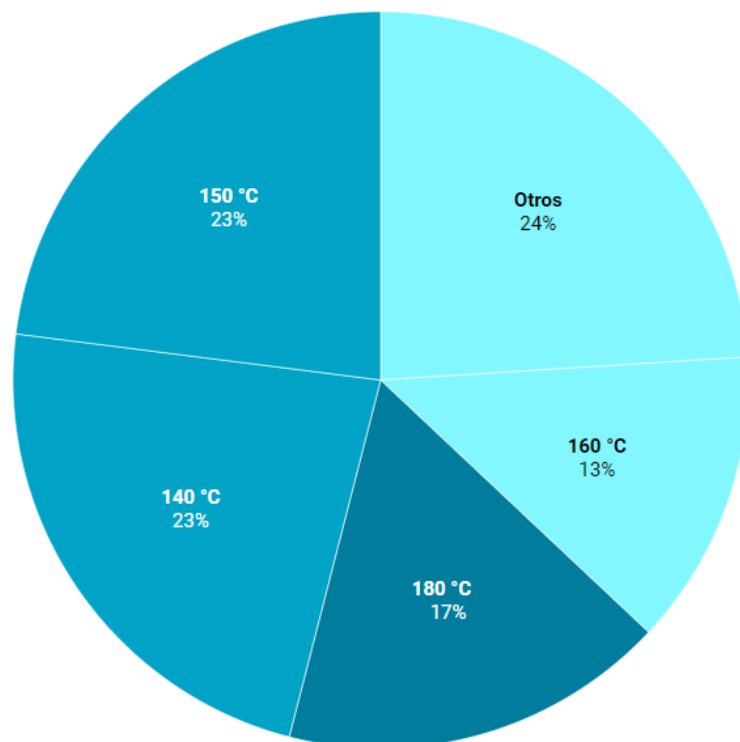
En la **Tabla 6 ensayo 5**, los autores realizaron una mezcla entre aislado de proteína de soya y maltodextrina como material de pared para encapsular antocianinas a partir de *Jaboticaba pomace*. Para la preparación del material de pared se usó con 5% de proteína aislado de soya y 15 % de maltodextrina.

Durante el estudio se evidenció que esta combinación disminuyó la solubilidad debido a la interacción hidrofílica de las antocianinas con la proteína. La parte hidrofílica de las antocianinas es caracterizada por grupos hidroxilo los cuales forman puentes de hidrogeno con los grupos carbonil y amino de la proteína. Adicionalmente la parte hidrófoba de la molécula de antocianina, anillo de benceno, interactúa con las regiones no polares de la proteína y esto en presencia de agua tienden a asociarse por fuerzas de Van der Waals disminuyendo las áreas superficiales expuestas al agua (Pereira Souza et al., 2017).

Mahdavi, et al., (2016) también realizaron estudios para comparar las eficiencias de encapsulación entre la combinación de distintos materiales de pared. Este estudio comparó maltodextrina + gelatina, maltodextrina + goma arábiga y maltodextrina sola. De éstas la primera tuvo más antocianinas superficiales, por lo que tuvo una eficiencia menor en comparación que maltodextrina con goma arábiga. El uso de maltodextrina sola como material de la pared proporcionó la menor eficiencia probablemente debido a su falta de emulsificación y baja capacidad de formación de película.

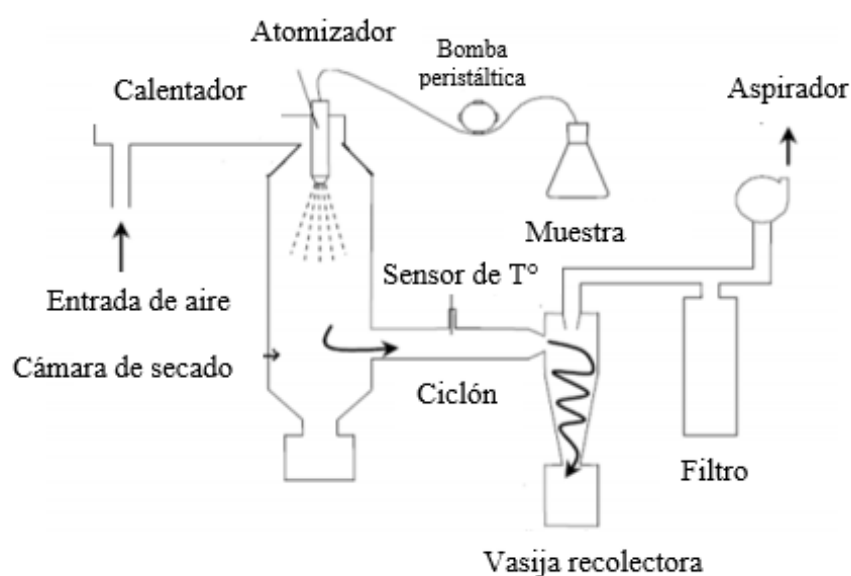
## 5.8. Secado por aspersión

Algunos de los factores que pueden afectar la eficiencia de encapsulación del secado por aspersión son: los parámetros de secado tales como temperaturas de entrada y salida, caudal de alimentación, flujo de aire, la relación núcleo material de pared y las propiedades de los agentes encapsulantes (Mahdavi, et al., 2016). La temperatura de entrada y la elección de los agentes encapsulantes son los dos factores más reportados en los estudios revisados, por tanto, esta sección se dedicará a la revisión de estos dos. En la **Figura 26** se observa las temperaturas más reportadas para el proceso de secado por aspersión de antocianinas, 150 y 140 °C cada una con el 23% y 180 °C con el 17%. En el porcentaje de otros que es el mayor encontrado (24%) se encuentran variedad de temperaturas como 120, 130 °C entre otras.



**Figura 26.** Porcentaje de reporte de temperaturas de entrada en los procesos de secado por aspersión revisados en este trabajo n=30. Referencias ver en **Anexo 2**.

Es importante resaltar teniendo en cuenta la pérdida de estabilidad de las antocianinas a altas temperaturas que reportaron Fredes et al., (2018), que este método es bueno para compuestos sensibles a la temperatura debido a que durante el secado por aspersión los tiempos de aumento de temperatura son muy cortos de 5 a 30 s. En la **Figura 27** se observa un esquema de un equipo usado para el secado por aspersión.



**Figura 27.** Esquema de un equipo usado para el secado por aspersión (Franceschinis et al., 2014).

### 5.8.1. Efectos de la temperatura de entrada

Algunas investigaciones reportaron los efectos que tiene la temperatura de entrada en el proceso de encapsulación, estas son el rendimiento, la retención de antocianinas, la solubilidad y el contenido de humedad. A continuación, la revisión de cada una.

### **5.8.1.1.Efecto sobre el rendimiento**

A medida que incrementa la temperatura de entrada aumenta el rendimiento del proceso (Laokuldilok & Kanha, 2015). Fue a la conclusión que llegaron Laokuldilok & Kanha, (2015) al evaluar 3 temperaturas de entrada, 140, 160 y 180 °C con maltodextrinas con diferentes valores DE para encapsular antocianinas de *Oryza sativa* L.

La temperatura elegida como optima fue 180 °C. Los autores mencionan que el uso de una temperatura de entrada alta puede reducir la cantidad de polvo adherido a la pared del secador, aportando esto a un aumento en el rendimiento. El aumento fue desde un 64.7% a un 82.16% al aumentar la temperatura de entrada de aire.

### **5.8.1.2.Efecto sobre la retención de antocianinas**

En el mismo ensayo anterior (Laokuldilok & Kanha, 2015), se evaluó el efecto de la temperatura del aire de entrada sobre la retención de antocianinas, en este estudio se encontraron % de retención desde 47.67% a 71.96%.

Ellos observaron que a un aumento de la temperatura de 140°C a 180 °C tuvo una tendencia a disminuir la retención de antocianinas y atribuyen a que esta disminución probablemente es por la inestabilidad térmica de las antocianinas (Laokuldilok & Kanha, 2015).

Jiménez-Aguilar et al., (2011) realizaron un ensayo en el que variaron entre dos temperaturas de entrada para la microencapsulación de antocianinas de *Vaccinium* spp. con goma mezquita 140 – 160 °C. En este ensayo midieron la temperatura de salida y encontraron que esta tiene un efecto en la pérdida de antocianinas totales, dado que, durante el proceso de secado por aspersion el producto ésta expuesto a esta temperatura. Por tanto, la temperatura de entrada elegida en este estudio fue 140 °C ya que se observó la menor pérdida de contenido de total de antocianinas y color.

Al ver estos dos estudios, se visualiza la importancia de estudios de optimización que logren evidenciar para el estudio puntual a realizar cual es la temperatura óptima. De acuerdo con estas dos investigaciones, en una de ellas la temperatura seleccionada por sus buenos resultados fue la mayor evaluada (180°C) y en la otra investigación fue la menor evaluada (140 °C).

### **5.8.1.3.Efecto sobre la solubilidad**

El aumento en la temperatura del aire de entrada incrementa la solubilidad. Lo anterior fue reportado por Laokuldilok & Kanha, (2015) que hicieron una revisión con diferentes temperaturas de entrada (140,160 y 180 °C) para encapsular antocianinas a partir de *Oryza sativa* L y encontraron solubilidades desde 76.23 a 91,79%.

Los autores mencionan que la formación de grumos puede disminuirse con el incremento en las temperaturas de secado gracias a que elimina con mayor fuerza la

humedad de la superficie de los polvos lo cual favorece la solubilidad (los grumos son una estructura difícil de disolver) (Ersus & Yurdagel, 2007).

#### **5.8.1.4.Efecto sobre el contenido de humedad**

En un ensayo realizado por Jiménez-Aguilar et al., (2011) probaron dos temperaturas de secado, 140 y 160 °C para encapsular antocianinas de *Vaccinium* spp. Ellos reportan que, a una temperatura mayor, el contenido de humedad era menor ya que se evapora más cantidad de agua. Igualmente hacen referencia a que la temperatura de salida del aire es responsable del contenido de humedad del polvo.

Laokuldilok & Kanha, (2015) reportaron que una mayor temperatura de entrada de aire produce una mayor fuerza impulsora en la evaporación del agua y da como resultado antocianinas con menor contenido de humedad y menos  $a_w$ .

#### **5.8.2. Agentes encapsulantes secado por aspersión**

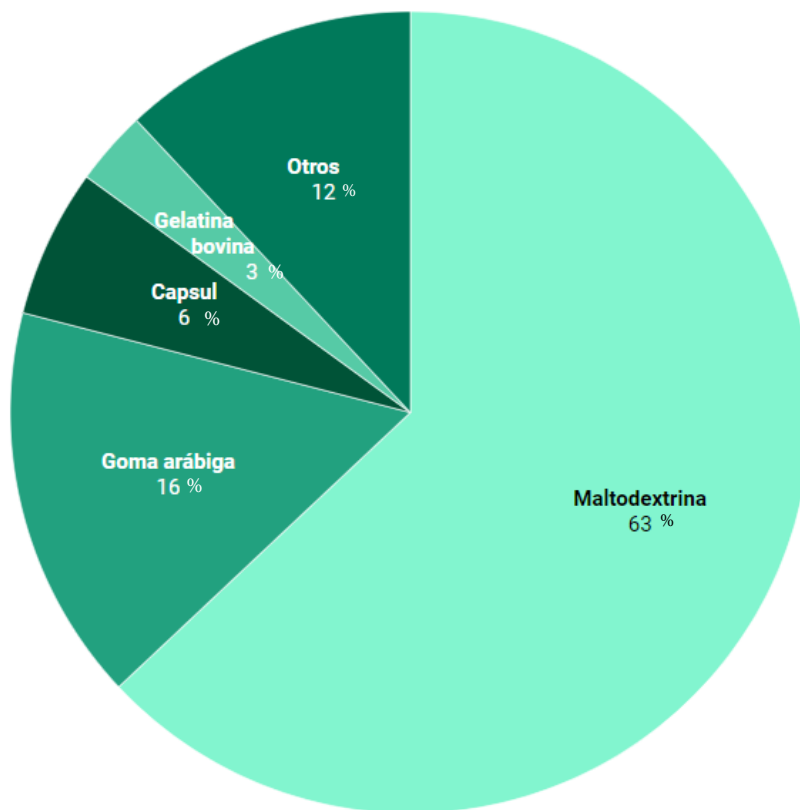
Como en el caso de la liofilización, los agentes encapsulantes usados y sus efectos tuvieron gran relevancia en los estudios revisados. Por tanto, se dedicará esta sección a revisar por medio de algunos estudios los análisis de los investigadores con respecto a este tema. Algunas de las características que deben revisarse para la selección del agente encapsulante según Jafari et al., (2016) son la compatibilidad con el producto alimenticio, la resistencia mecánica, tamaño apropiado de la partícula y una disolución adecuada.

Para el secado por aspersión se han utilizado diferentes tipos de agentes encapsulantes, incluidos polisacáridos (almidones, maltodextrinas, jarabes de maíz y goma arábiga), lípidos (ácido esteárico, mono y diglicéridos) y proteínas (gelatina, caseína, suero de leche, soja y trigo). Al ser las antocianinas colorantes hidrófilos y específicamente compatibles con una formulación de gel a base de agua, se han usado materiales de pared como pectina y goma, o maltodextrina y almidones (Jafari et al., 2016). Yousuf et al., (2016) reporta que polisacáridos como, inulina, goma arábiga, almidón de tapioca, jarabe de glucosa y proteína de soya son usados como materiales de pared.

En la revisión realizada en este trabajo se evidenció de acuerdo con lo anterior, los siguientes materiales de pared usados en las encapsulaciones por secado por aspersión. Maltodextrina como el más reportado con el 63%, seguido por goma arábiga con el 16%, capsul con el 6% y en menor proporción polidextrosa, aislado de proteína de soya, gelatina bovina, goma mezquita, almidón de tapioca y goma guar (**Figura 28**).

Para dar algunas premisas de la acción e importancia de los agentes encapsulantes en el secado por aspersión, se va a revisar por medio de investigaciones de optimización los siguientes temas:

- ✓ Relación núcleo – material de pared y tipo de agente encapsulante.



**Figura 28.** Porcentaje de reporte de agentes encapsulantes para secado por aspersion en las investigaciones revisadas en este trabajo. n=32. Referencias ver en **Anexo 2**.

✓ Efecto del material de pared y sus combinaciones sobre varios parámetros de las microcápsulas.

✓ Efecto valor DE en la maltodextrina usada como material de pared.

#### **5.8.2.1.Relación núcleo – material de pared y tipo de agente encapsulante**

Yousuf et al., (2016) reportaron que la relación núcleo/pared afecta directamente la eficiencia de encapsulación. Los autores mencionan que la relación material de pared



= ¼ que fue definida como la mejor opción para encapsular licopeno, puede funcionar también para las antocianinas.

En la **Tabla 7 ensayo 1**, es posible ver un ensayo evaluando diferentes relaciones núcleo/pared: 12%, 25%, 35% y 50% para encapsular antocianinas de *Berberis vulgaris* con maltodextrina (MD), maltodextrina con goma arábica (GA) o maltodextrina con gelatina (GE). La relación óptima fue del 25% para maltodextrina + goma arábica ya que la eficiencia de encapsulación fue significativamente diferente vs las demás opciones. Este resultado coincide con la relación ¼ mencionada.

Según Mahdavi, et al., (2016), la eficiencia de encapsulación en gran medida depende del material de pared y la relación entre este con el núcleo (material a encapsular) además de otras condiciones de operación de acuerdo con el método definido.

La relación vista en este ensayo de Mahdavi, et al., (2016) fue que a medida que aumentaba el contenido de pared a cualquier concentración constante del núcleo, la eficiencia de encapsulación aumentaba. Por el contrario, cuando aumentaba la relación del núcleo vs a una relación constante de material de pared la eficiencia disminuía.

#### **5.8.2.2.Efecto combinaciones agentes encapsulantes**

Mahdavi, et al., (2016) también hicieron una revisión de diferentes agentes encapsulantes y combinaciones, maltodextrina, maltodextrina con goma arábica y maltodextrina con gelatina para encapsular antocianinas desde *Berberis vulgaris*. En

**Tabla 7.** Estudios y optimizaciones realizadas en el secado por aspersión.

Número de ensayo	Matriz	Nombre	VARIABLES independientes	Condiciones evaluadas	Condiciones óptimas	Total de antocianinas / rendimiento/Eficiencia de encapsulación	Referencia
1	Fruto	<i>Berberis vulgaris</i>	Agente encapsulante Proporción core/material de pared	MD (DE=18-20) MD (DE=18-20) + GA MD (DE=18-20) + gelatina	MD+GA 25%	EE 92.83%	(Mahdavi, et al., 2016)
2	Flor	<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>	Agente encapsulante	12, 25,35 y 50% MD DE 11-15 GA GA + MD Almidón soluble	MD+GA	EE 99.87	(Idham et al., 2012)
3	Fruto	<i>Garcinia indica</i>	Efecto de valor DE	Maltodextrina DE 06, 19, 21 y 33	MD DE 21, 0.25% goma acacia y fosfato tricálcico.	485.20 mg/100 g	(Nayak & Rastogi, 2010)
4	Cereal	<i>Oryza sativa L.</i>	Fuente de maltodextrinas Efecto de valor DE Temperatura de entrada	Maltodextrina a partir de arroz partido DE 10 DE20 DE30 MD de tapioca DE 10 Temperatura de entrada 140, 160 y 180 °C MD29 DE 28-31 Glucodry 210 (DE 20-23) Stardri 10 (DE 10)	MD de arroz partido con un DE=20 a 180 °C	82.16% rendimiento	(Laokuldilok & Kanha, 2015)
5	Hortaliza	<i>Daucus carota, L.</i>	Agente encapsulante Temperatura de entrada	Temperatura de secado /temperatura de salida 160/107 °C 180 /118 °C 200/131 °C	Glucodry 210 160 °C	630 mg antocianinas/100 g DW	(Ersus & Yurdagel, 2007)

esta revisión se encontró que la combinación maltodextrina con goma arábica fue la mejor (**Tabla 7 ensayo 1**). Esto se asocia a que un solo material de encapsulación no posee todas las características requeridas y que requiere complementarse con otro para tener una función más efectiva. En este caso, la falta de emulsificación y baja capacidad de formación de películas de la maltodextrina son suplidas por la goma arábica obteniendo mejores eficiencias (Mahdavi, et al., 2016).

La formación de películas de la goma arábica es posible gracias a que este es un hetero polímero altamente ramificado, que contiene una pequeña cantidad de proteína unida covalentemente a la cadena de carbohidratos que actúa como un muy buen formador de película atrapando mejor la molécula encapsulada. Así logrando la protección del catión flavilo al ataque nucleofílico de moléculas de agua (Mahdavi, et al., 2016).

Idham et al., (2012) hicieron una comparación entre diferentes materiales pared, tales como maltodextrina, goma arábica, combinación de las dos y almidón soluble (**Tabla 7 ensayo 2**) para encapsular antocianinas de *Hibiscus sabdariffa*. Encontraron que la combinación goma arábica – maltodextrina fue la que obtuvo mayor eficiencia de encapsulación, (99,87 %) de antocianinas, seguida de maltodextrina (99,69%), goma arábica (98,4 %) y almidón soluble (96,7 %). Corroborando estos resultados lo mencionado anteriormente.

### **5.8.2.3.Efecto de la combinación de materiales de pared sobre el contenido de humedad**

Mahdavi, et al., (2016) evaluaron el efecto de diferentes materiales de pared sobre el contenido de humedad. Los materiales de pared probados son los relacionados en la **Tabla 7 ensayo 1**. En esta investigación se encontraron diferencias significativas entre la humedad de las microcápsulas con solo maltodextrina, maltodextrina y goma arábica y maltodextrina y gelatina, siendo la humedad de esta último considerablemente mayor. Lo anterior se atribuye a que la gelatina tiene capacidad de actuar como una esponja cuando es sometida a agitación y posteriormente al proceso de secado puede conducir a un mayor contenido de humedad (Mahdavi, et al., 2016).

#### **5.8.2.4.Efecto de la combinación de materiales de pared sobre la higroscopicidad**

Uno de los factores que Mahdavi, et al., (2016) comprobaron que puede afectar la higroscopicidad fue el uso de diversos materiales de pared. En la **Tabla 7 ensayo 1** se visualiza los materiales de pared estudiados. Ellos identificaron que la higroscopicidad de la maltodextrina con gelatina fue significativamente mayor.

Mahdavi, et al., (2016) reportaron que con el aumento del peso molecular la transición vítrea aumenta y por tanto será menos higroscópicos. La maltodextrina y la goma arábica tienen un alto peso molecular que hace que sean menos higroscópicos.

Mahdavi, et al., (2016) mencionaron además que aplicando el concepto de gradiente de concentración, podría pensarse que polvos con menor contenido de humedad

podrían tener una mayor higroscopicidad y que tienen mayor capacidad para absorber la humedad ambiental.

#### **5.8.2.5.Efecto combinación agentes encapsulante en la morfología**

Kuck & Noreña, (2016) realizaron un estudio en el que compararon diferentes agentes encapsulantes, goma arábica (GA), povidona (PD) y goma guar parcialmente hidrolizada (PHGG) para antocianinas extraídas de *Vitis labrusca* var. Bordo con el objetivo de evaluar el efecto del agente encapsulante sobre la morfología y el tamaño de partícula.

Ellos encontraron que el agente encapsulante si afecta el tamaño de partícula. Los tamaños de partícula encontrados estuvieron entre 4.8 – 14.3  $\mu\text{m}$  y vieron que las muestras de menor tamaño fueron las encapsuladas con goma arábica (GA) y por el contrario los tamaños de las partículas con PD fueron más grandes que todas las que no tenían povidona (Kuck & Noreña, 2016).

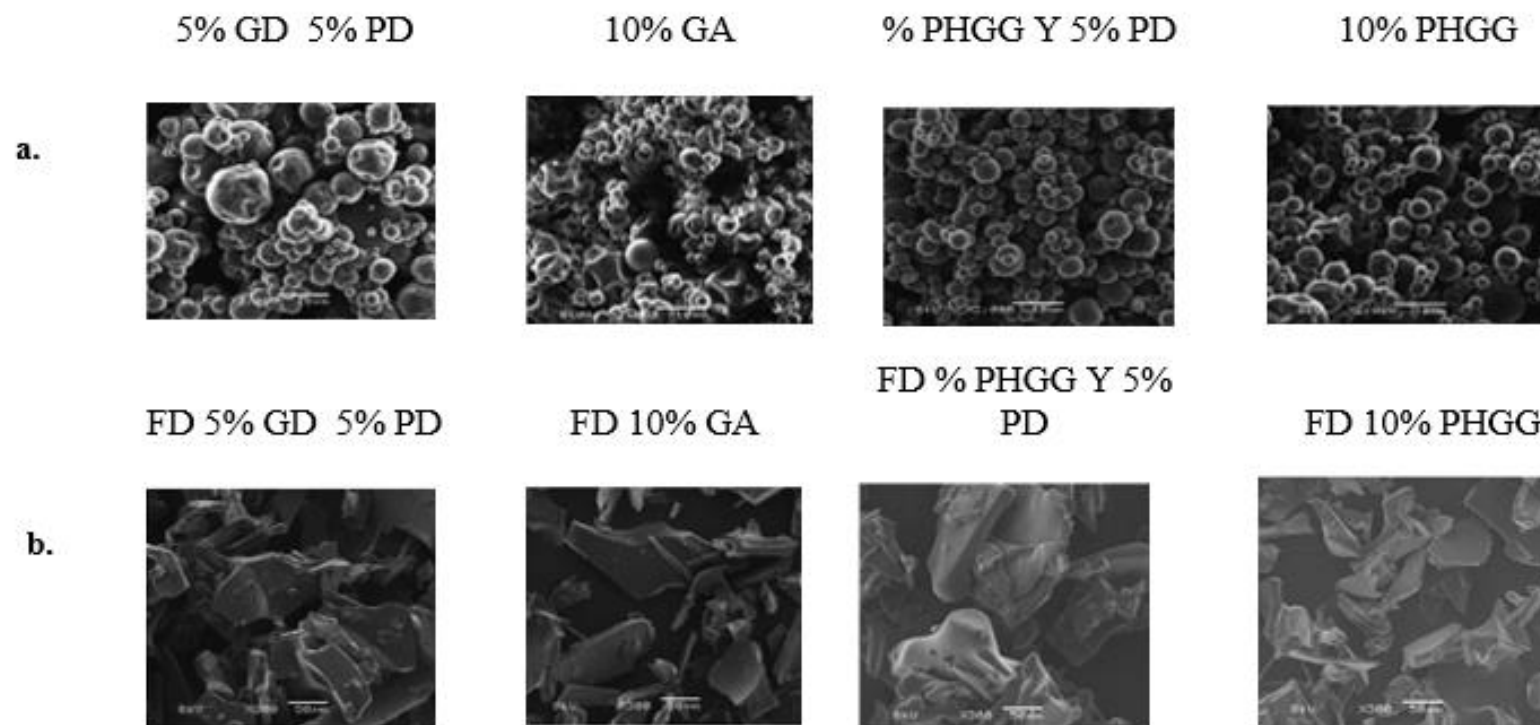
Según Kuck & Noreña, (2016), en el secado por aspersión el tamaño de la partícula está dada por la viscosidad del material de pared, a mayor viscosidad, mayor tamaño de partícula. También mencionan que los tamaños más grandes pueden deberse a un proceso de aglomeración, ya que la formación de puentes irreversibles conducirá a la formación de partículas más grandes.

A nivel de características, se encontró que las microcápsulas fueron esféricas, de diferentes tamaños y sin fisuras. Se observó también diferencias de acuerdo con el material de pared, aquellas partículas con GA presentaron concavidades y una superficie rugosa (**Figura 29 a**).

Dichas concavidades se forman debido a la rápida evaporación del agua y su posterior contracción. También puede deberse al tamaño de la molécula encapsulante. La povidona tiene más bajo peso molecular, seguido por PHGG y por GA. Dichas concavidades se observaron más en las capsulas con material de pared GA que con PHGG, estas fueron más esféricas y con menos cavidades (**Figura 29 a**) (Ersus & Yurdagel, 2007).

La mejor microestructura fue vista con los materiales de pared 5% PD y 5% PHGG (**Figura 29a**). Esto se definió por que las partículas son más esféricas, menos rugosas y con menos concavidades. Las superficies rugosas o agrietadas tienen mala fluidez y mayor superficie de contacto, por tanto, son más susceptibles a la degradación (Ersus & Yurdagel, 2007).

**Figura 29.** Micrográficas de la encapsulación de antocianinas de piel de *Vitis labrusca* var. Bordo con la adición de diferentes materiales encapsulantes. Goma arábica (GA), polidextrosa (PD) y goma guar hidrolizada (PHGG) en secado por aspersión (2000X) (a) y secado por liofilización (300X) (b).



En este estudio además se hizo una comparación con los mismos materiales de pared, pero liofilizados. Los autores concluyeron que efectivamente las micropartículas secadas por los dos métodos tienen estructuras muy diferentes (**Figura 29**). Las estructuras observadas en la liofilización son irregulares, como vidrios rotos y de varios tamaños. Ellos lo atribuyen a que la liofilización se realiza con una estructura congelada rígida y la falta de agua en estado líquido resulta en una estructura porosa y sin contracción.

Adicional las partículas de la liofilización son de mayor tamaño (104.3 – 684.9  $\mu\text{m}$ ) que las secadas por secado por aspersion (4.8 – 14.3  $\mu\text{m}$ ). Este mayor tamaño se debe a las bajas temperaturas usadas en el proceso.

#### **5.8.2.6. Efecto valor DE en la maltodextrina**

Al igual que se revisó en el proceso de liofilización, para el secado por aspersion también se ha estudiado el efecto del valor DE. En el **Tabla 7 ensayo 3** se comparó el efecto del valor DE sobre la encapsulación de antocianinas de *Garcinia indica*.

En dicho ensayo, los autores evaluaron valores DE, 6, 9, 21 y 33. Encontraron que el aumento en el valor DE 6 a 21 tiene como resultado un aumento significativo en el contenido de antocianinas (de 325 a 430 mg/100 g); un aumento adicional en el valor DE hasta 33 resultó en una disminución (de 430 a 399 mg/100 g), adicional se encontró que la eficiencia de retención de antocianinas aumentaba de 65,10 a 79,80 % con un



aumento de los valores de DE 6 a 33 aunque esta eficiencia fue mejor a un DE 21 (Nayak & Rastogi, 2010).

Los autores mencionan que una maltodextrina con bajo DE contiene una proporción de sacáridos de cadena larga, que dan como resultado una barrera inflexible durante la microencapsulación que es permeable al oxígeno. Cuando el valor DE aumenta, también la proporción de sacáridos de cadena corta lo hacen y esto tiene como resultado un aumento de las propiedades de barrera.

#### **5.8.2.7.Efecto del DE sobre la solubilidad**

Laokuldilok & Kanha, (2015) realizaron esta evaluación de la solubilidad teniendo en cuenta MD DE 10 a 30 para encapsular antocianinas de *Oryza sativa* L (**Tabla 7 ensayo 4**). En este ensayo se evidenció que el valor de DE tiene efecto sobre la solubilidad ya que esta aumentó pasando de un DE = 10 a 20 pero disminuyó cuando subió a DE=30.

#### **5.8.2.8.Efecto del DE sobre el contenido de humedad**

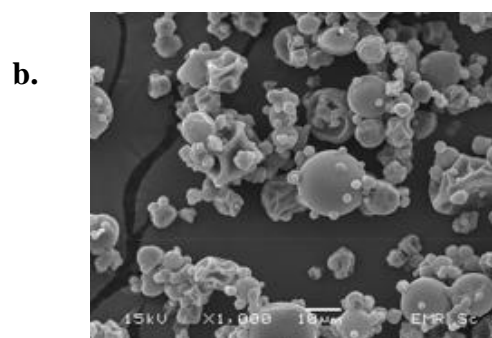
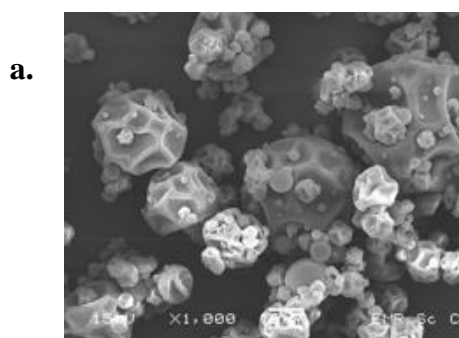
En cuanto a la relación del contenido de humedad con el valor DE de las maltodextrinas, en la **Tabla 7 ensayo 4**, es posible ver que se realizó una prueba con 3 maltodextrinas con un DE 10, 20 y 30. Según sus resultados, a mayor DE se incrementa el contenido de humedad y  $a_w$ .

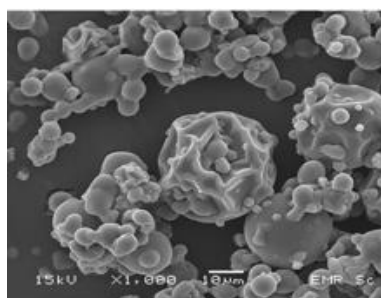
Esto se atribuye a que a mayor DE la relación de cadenas cortas de polisacáridos es mayor y absorben la humedad circundante gracias a sus grupos hidrofílicos (Laokuldilok & Kanha, 2015). Además Laokuldilok & Kanha, (2015) reportan que cuando decrece el peso molecular de las maltodextrinas se incrementa las propiedades higroscópicas de los polvos.

Nayak & Rastogi, (2010) también reportaron que con el aumento del DE se observó un aumento de las propiedades higroscópicas de 72% a 85.32% de un DE 6 a un DE 33. Esto se debe a que los sacáridos de cadena corta son más higroscópicos que los de cadena larga por su mayor contenido de grupos hidrofílicos.

#### 5.8.2.9.Efecto del DE sobre la morfología de las microcápsulas

Con respecto al efecto de los valores DE sobre la morfología de las microcápsulas Laokuldilok & Kanha, (2017) quienes evaluaron maltodextrina DE 10, 20 y 30 con antocianinas extraídas de *Oryza sativa* L. (**Tabla 7 ensayo 4**), reportó que maltodextrinas DE 10 proporcionaron en su estudio microcápsulas con una superficie de partículas más arrugadas y muchas grietas en la pared. Estas grietas causan problemas en el almacenamiento debido a la permeabilidad del oxígeno (**Figura 30 a**).





**Figura 30.** Micrografía de microcápsulas de antocianinas de *Oryza sativa* L. encapsuladas por secado por aspersión con maltodextrina de diferentes valores DE a. DE10, b. DE20, c. DE 30 (1000X). (Laokuldilok & Kanha, 2017).

Maltodextrina DE 20 arrojó superficies más lisas (**Figura 30 b**), mientras DE 30 partículas esféricas con más poros y más partículas con un puente sólido en puntos de contacto dan como resultado partículas más grandes (**Figura 30 c**) (Laokuldilok & Kanha, 2017).

Nayak & Rastogi, (2010) realizaron un ensayo con maltodextrina DE 6, 19, 33 por secado por aspersión. Los tamaños de las muestras variaban de 2-50 mm. Vieron que cuando se usó MD DE 6 y 19 se observaban abolladuras y grietas en las superficies mientras que las de mayor DE 21 y 33 fueron lisas (**Tabla 8**).

Los autores mencionan que esto se puede dar por un mayor espesor del material de la pared con el aumento en las extensiones de los valores DE 6 a 33. Es importante recordar que la maltodextrina con bajo valor DE se secará más rápido vs la de mayor DE, por tanto, la velocidad de secado más rápida producirá una fina capa de pared.

Nayak & Rastogi, (2010) evaluaron un sistema de pared que resulto ser el más efectivo en su ensayo (**Tabla 8 ensayo 3**). El sistema de pared estaba compuesto por 5% de maltodextrina DE 21, 0.25 % de goma arábica y 0.25% de fosfato tricálcico. Esta conclusión se obtuvo porque es el que tenía un tamaño esférico uniforme y sin abolladuras en comparación con los demás (**Tabla 8**). Además, que fue el que tuvo mayor contenido de antocianinas.

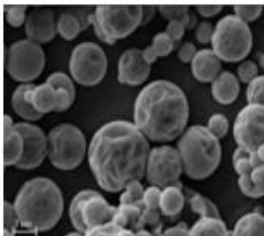
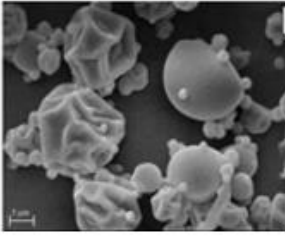
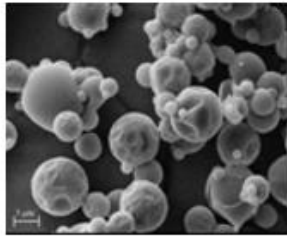
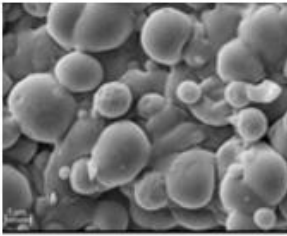
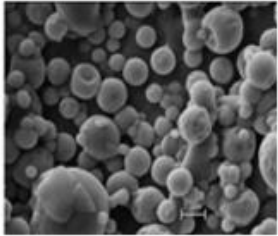
#### **5.8.2.10. Efecto del DE junto con la temperatura de entrada**

La temperatura de entrada esta vista como una de las condiciones que afecta los procesos de encapsulación en el secado por aspersión. Ersus & Yurdagel, (2007) hicieron una prueba en la que probaron tres temperaturas de entrada (**Tabla 7 ensayo 5**). Estas evaluaciones de temperatura las realizaron para 3 tipos de maltodextrinas con diferentes valores DE (10, 20-23 y 28 – 31) para encapsular antocianinas desde *Daucus carota*.

Los autores Ersus & Yurdagel, (2007) encontraron que para la maltodextrina con un DE 10 la temperatura de secado no tuvo efectos significativos en cuanto al contenido de antocianinas. Sin embargo, para las maltodextrinas con DE 20-23 y DE 28-31 si hubo un contenido mayor de antocianinas a 160 °C vs 180 y 200 °C.

Con esto, Ersus & Yurdagel, (2007) concluyeron que maltodextrinas con valores menores DE pueden someterse a temperaturas mayores a 180 °C y hasta 200°C, pero

**Tabla 8.** Micrografías de microcápsulas de antocianinas de *Garcinia indica* encapsuladas con maltodextrina como material de pared con diferentes valores DE y otra opción con adición de fosfato tricálcico y gomo acacia (Nayak & Rastogi, 2010).

Valor DE	6	19	21	33	21+ 0.25% fosfato tricálcico y 0.25 % goma acacia
					

para valores DE desde 20 eran mejor temperaturas de 160 °C. Por tanto, a medida que el DE es mayor, las maltodextrinas son más sensibles a la temperatura.

Lo anterior se asocia a que el peso molecular es más bajo y contienen cadenas más cortas y las reacciones de oxidación de los aldehídos en los lados abiertos de las moléculas pueden conducir a deformaciones estructurales durante los procesos de calentamiento (Ersus & Yurdagel, 2007).

Laokuldilok & Kanha, (2015) quienes evaluaron maltodextrinas DE 10, DE 20 y DE 30 también explican en su investigación el efecto de la temperatura en conjunto con el valor DE. Ellos mencionan que cuando la maltodextrina aumenta su valor DE ocasiona un aumento en el espesor del material de pared. Un valor DE más alto se secará más lentamente que un valor DE más bajo a la misma temperatura.

Por tanto, la maltodextrina con un DE 30 tendrá una superficie más humedecida lo que ocasiona que su polvo sea más pegajoso. Para este estudio la maltodextrina elegida con mejores resultados fue DE 20 (**Tabla 7 ensayo 4**).

#### **5.8.2.11. Efecto del DE y la temperatura de entrada sobre la morfología**

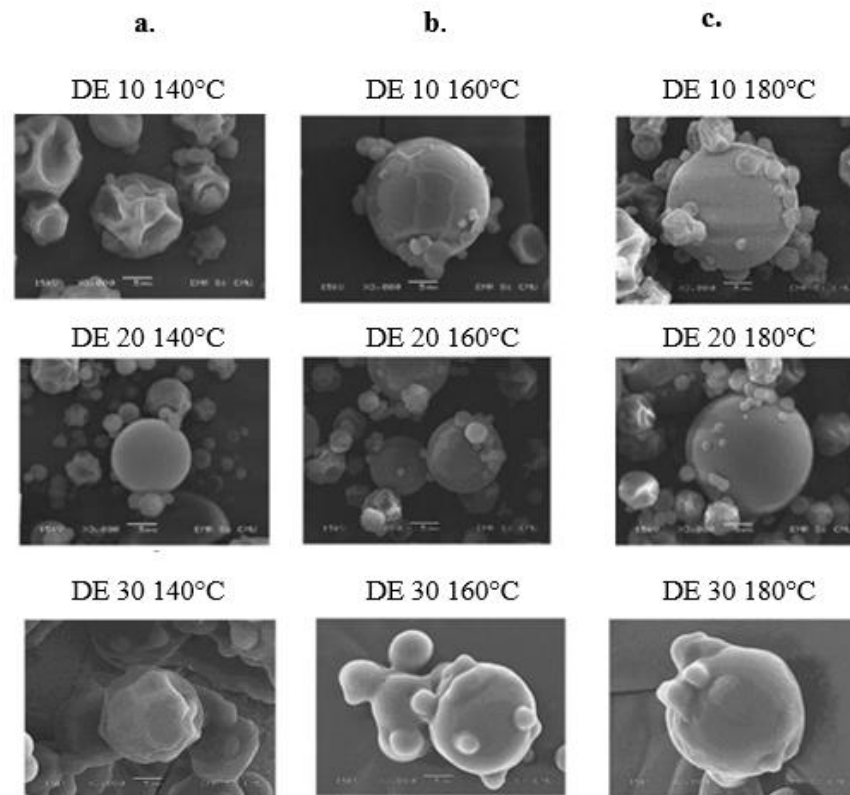
Laokuldilok & Kanha, (2015) (**Tabla 7 ensayo 4**) también evaluaron la morfología vs la temperatura de entrada y el valor DE en las maltodextrinas usados como material de pared **Figura 31 a, b y c**. Encontraron que a un mismo valor de DE, el aumento de la

temperatura del aire de entrada provoca un agrandamiento de las partículas. El aumento estuvo en valores desde 13.5 a 23.1 mm.

Los autores de esta investigación atribuyen a qué a una velocidad de secado mayor, resulta en una formación más rápida de la microcápsula con una superficie más lisa y una corteza más dura y por tanto no se puede desinflar la parte hueca cuando como cuando la temperatura es baja.

Igualmente, también se observó que las partículas con superficie lisas eran muchas más a una mayor temperatura del aire de entrada (**Figura 312 a, b y c**). El aumento de la temperatura de aire provocó una evaporación del agua más rápida y permite la formación de partículas lisas con costra dura. Por el contrario, a menores temperaturas la superficie fue más arrugada (Laokuldilok & Kanha, 2015). Las micropartículas con superficies más lisas pueden proteger más sus núcleos que las superficies rugosas que pueden tener grietas y hendiduras superficiales (Laokuldilok & Kanha, 2015).

Lo anterior puede verse en la **Figura 31 a, b y c** que a medida que aumenta en todas las temperaturas y el valor DE la superficie es más lisa y menos hueca. A una temperatura de 140°C y un material de pared con valor DE 10 se observa las superficies más huecas y menos lisas de las muestras revisadas **Figura 31a**.



**Figura 31.** Microcápsulas secadas por SD. Evaluación del valor DE y temperatura de entrada. a. b y c evaluaron antocianinas de *Oryza sativa* L. a valores de DE de 10 a 30 a temperaturas de c. 140°C, d 160 °C y e. 180 °C (3000X). (Laokuldilok & Kanha, 2015).



## 5.9.Comparación Liofilización – Secado por aspersión

La liofilización y el secado por aspersión son dos de los métodos más usados para estabilizar antocianinas. Algunos estudios hicieron comparación entre estas dos tecnologías y los resultados pueden verse en la **Tabla 9**. En esta tabla se registra cada una de las unidades que se usaron en cada investigación para la comparación.

**Tabla 9.** Resultados de antocianinas comparados en secado por aspersión y liofilización.

Ensayo	Especie	Cuantificación de antocianinas	Secado por aspersión	Liofilización	Referencia
1	<i>Rosa rugosa</i>	Retención de antocianinas (%)	75.85	95.12	(Yu & Lv, 2019)
2	<i>Oryza sativa</i>	Total de antocianinas (mg cianidina 3 glucósido /100 g dm)	617.29 – 844.38	761.24-931.89	(Laokuldilok & Kanha, 2017)
3	<i>Myrica rubra</i>	Contenido de antocianinas (mg/g)	0.80	1.21	(Cheng et al., 2017)
4	Blackberries	Retención de antocianinas %	75	58	(Franceschinis et al., 2014)

Es la **Tabla 9** es posible ver que, en las diferentes publicaciones de acuerdo con la unidad de cuantificación, la liofilización tuvo mejores resultados de retención, contenido y total de antocianinas.

En el ensayo 1 **Tabla 9**, Yu & Lv, (2019) hacen referencia a que el oxígeno junto con la temperatura tiene efectos importantes en las pérdidas de antocianinas en secado por aspersión ya que la superficie expuesta aumenta con el proceso de atomización. Igual también menciona que otros autores han reportado que el efecto de la temperatura es insignificante debido al tiempo corto de exposición.

Con respecto a las pérdidas en la liofilización se relacionan con el proceso de molienda posterior al secado ya que esto aumenta la posibilidad de contacto entre el polvo y el aire provocando reacción de oxidación (uno de los principales factores que conducen a la degradación de la sustancia activa) (Yu & Lv, 2019).

En el ensayo 2 **Tabla 9** por su parte Laokuldilok & Kanha, (2017) reportaron que sus resultados están asociados a la mayor temperatura del proceso de secado por aspersión vs la liofilización. Esto debido adicional por el aumento de la superficie de contacto entre el ambiente caliente con las partículas atomizadas.

Cheng et al., (2017) en el ensayo 3 **Tabla 9** hacen mención de que su comparación también obtuvo diferencias significativas y que puede asociarse a que la temperatura de -50 °C usada en la liofilización vs de temperaturas de entradas de 160 °C en el secado por aspersión influyó en que el estrés térmico fuera más bajo en la liofilización.

Igualmente, Franceschinis et al., (2014) reportaron que sus resultados entre los dos procesos tuvieron diferencias significativas y que puede deberse a que el secado por aspersión usa temperaturas más altas que la liofilización lo cual puede afectar el contenido de antocianinas.

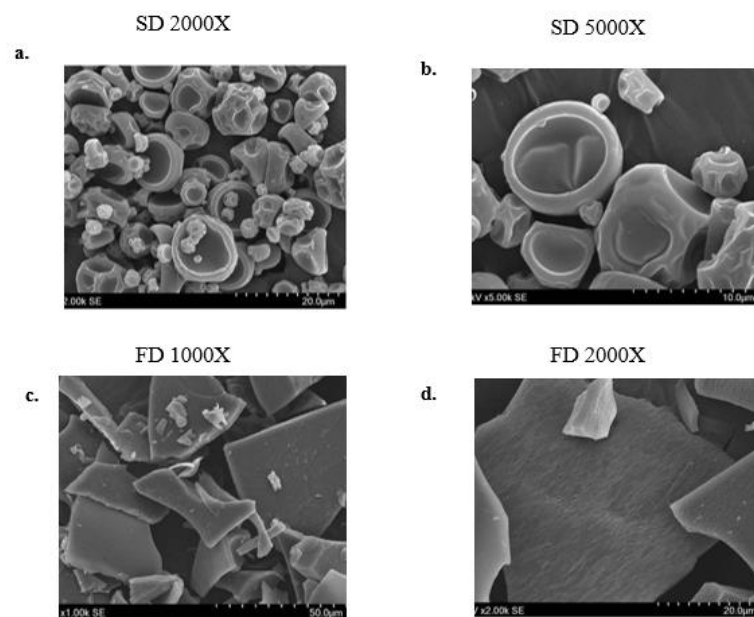
De acuerdo con lo anterior, los últimos reportes asocian a que el secado por aspersión debido a sus altas temperaturas puede tener un efecto importante en el contenido de antocianinas, sin embargo, otros estudios como Fredes et al., (2018) y Yu & Lv, (2019)

mencionaron que la temperatura en el secado por aspersión no tiene efectos significativos, por tanto, antes de decidir entre estas dos tecnologías para un proceso de estabilización, resultaría interesante y valioso poder optimizarlas y compararlas antes de tomar una decisión.

### **5.9.1. Comparación morfológica**

Yu & Lv, (2019) realizaron una comparación entre la microestructura secadas por aspersión y por liofilización de antocianinas extraídas a partir de *Rosa rugosa*. El material de pared usado fue goma arábiga y maltodextrina. En dicha observación se encontró que la mayoría de las micropartículas del secado por aspersión presenta una estructura esférica sin grietas ni aglomeraciones y el resto tenía una apariencia plana.

También se observaron extensas concavidades y arrugas en la superficie que las hacía parecer eritrocitos (**Figura 32 a y b**). Por el otro lado, las partículas con liofilización fueron de forma indefinida, similar a trozos de vidrio quebrado, con forma laminada, texturas frágiles y compactas se observaron con bordes prominentemente afilados (**Figura 32 c y d**).



**Figura 32.** Comparación morfologías magnificadas de secado por aspersión vs liofilización de antocianinas de *Rosa rugosa* con goma arábiga y maltodextrina. a. Secado por aspersión 2000x, b. secado por aspersión 5000x, c. liofilización 1000x y d. liofilización 2000x. (Yu & Lv, 2019).

El secado por aspersión a alta temperatura induce una rápida evaporación del agua de las gotas atomizadas, lo que llevó a la formación de partículas esféricas con encogimiento en la superficie, en contraste, en el proceso de liofilización, el agua de los materiales se sublimó instantáneamente en forma de hielo, dando como resultado un ligero cambio de volumen y estructuras sin compresión ni colapso y los espacios restantes fueron llenados de aire (Yu & Lv, 2019).

Lo anterior también lleva a obtener tamaños de partículas diferentes en ambos procesos, en este caso, para secado por aspersión se obtuvieron tamaños medios de

19.05±1.02 y 1.54±0.20  $\mu\text{m}$  y para liofilización fueron 25.89±0.92 y 6,10±0.71  $\mu\text{m}$  (Yu & Lv, 2019).

En la liofilización la fuerza no fue suficientemente fuerte como para cambiar la superficie o las gotas congeladas a baja temperatura y los enlaces irreversibles se formaron al comienzo del proceso de aglomeración (congelados por torta) llevando esto a un tamaño de mayor partícula en la liofilización (Yu & Lv, 2019).

Adicional a lo anterior, después de terminada la liofilización viene un proceso de molienda lo cual también ayuda a tener tamaños más grandes. Igual es importante tener en cuenta, que el secado por aspersión inicia con una suspensión líquida y la liofilización no (Yu & Lv, 2019).

A continuación, algunas diferencias que reportan diferentes autores sobre estas dos tecnologías:

- Las pérdidas durante el secado por aspersión se relacionan con la gran superficie expuesta al aire durante el proceso y las altas temperaturas y en el caso de liofilización está asociada a la molienda del material después de terminado el proceso de liofilización (Yu & Lv, 2019).
- En cuanto a la higroscopicidad, Yamashita et al., (2017) reportó que es posible que en polvos liofilizado se encuentre una higroscopicidad más baja debido al tamaño de partícula más grande en comparación con el producto secado por

aspersión. Esto debido a que cuanto mayor es el tamaño de partícula, la superficie expuesta es menor y en consecuencia la absorción de agua también lo es.

- Laokuldilok & Kanha, (2015) reporta que la higroscopicidad de los polvos producidos por liofilización es más alta y por tanto su formación de grumos es posible ya que absorben humedad externa y sus superficies pueden estar más húmedas.
- El diámetro de partícula de los productos secados por aspersión varía de 1 a 15 mm, mientras que los productos liofilizados pueden alcanzar los 300 mm.

En el **Anexo 5** también se listan algunas ventajas y desventajas planteadas por diferentes estudios de ambas tecnologías de microencapsulación.

#### **5.10. Estudios de estabilidad**

De los artículos revisados se encuentran variedad de estudios de estabilidad en los que se evalúa el efecto en las antocianinas con temperatura y pH principalmente. También hay algunas evaluaciones para la presencia de luz, humedad relativa, tipo de agente encapsulante, tecnología de estabilización (secado por aspersión o liofilización) y presencia de oxígeno.

### **5.10.1. Temperatura: efecto**

En la industria de alimentos, muchos productos requieren ser procesados térmicamente antes de su consumo. Estos buscan garantizar inocuidad, prolongar vida útil y mejorar sus propiedades funcionales (Sui et al., 2016). Algunos de estos procesos pueden ser, pasteurización (63 – 100 °C), esterilización (100 – 130 °C) y tratamiento de ultra alta temperatura (UHT). Estos tratamientos pueden llevar a la degradación del color. Igualmente, además de esta etapa del proceso, los productos generalmente son almacenados por largos o medianos periodos de tiempo a una determinada temperatura y es esencial que las condiciones de color dadas por la estabilidad de las antocianinas sigan aceptables hasta consumo (Sui et al., 2016).

De acuerdo con lo anterior y conociendo la inestabilidad de las antocianinas a la temperatura, se hace relevante que se estudie su comportamiento en la matriz de aplicación u otras soluciones modelo de acuerdo con unas determinadas condiciones con el objetivo de evaluar su desempeño (Sui et al., 2016).

H. Xu et al., (2015) publicaron que, en la degradación térmica, la inestabilidad de las antocianinas se atribuye principalmente a su estructura y que el paso reversible de iones flavilio en formas chalcona es un paso importante en el mecanismo de degradación y decoloración.

Assous et al., (2014) también mencionaron que la degradación térmica conduce a la formación de la chalcona y su posterior transformación en varios productos de

degradación que se condensan para formar compuestos poliméricos marrones complejos conocidos como pigmentos melanoideos.

Al agrupar los factores que pueden afectar la estabilidad térmica de las antocianinas, Fernández-López et al., (2013) mencionaron que estos son tres, (i) su estructura, (ii) la magnitud del calor y (iii) su duración. Algunos de los estudios mencionan las características de la estructura de las antocianinas que se pueden relacionar con su estabilidad a la temperatura. Estás son nombrados a continuación:

- Las antocianinas aciladas son más resistentes que las no aciladas. Esto fue comprobado por H. Xu et al., (2015) en su ensayo con pieles de uva: bajo las mismas condiciones de prueba las antocianinas aciladas fueron más resistentes.
- El complejo intermolecular e intramolecular son mecanismo de copigmentación que contribuyen a mejorar la estabilidad de antocianinas (Bayram et al., 2015)
- Sui et al., (2014) compararon la estabilidad de cianidin-3-rutinoside con cianidina-3-glucoside. Este estudio fue a diferentes temperaturas y encontraron que la cianidina-3rutinoside es más estable que la cianidina-3-glucoside. Esto lo atribuyen a que la primera tiene una glicosilación adicional lo cual puede tener un efecto estabilizador. Lo que es que existe un efecto protector de los azúcares que inhiben la formación de intermediarios inestables (Sui et al., 2014).



Teniendo en cuenta lo nombrado, Peng et al., (2019) mencionaron que es importante que los ensayos de estabilidad puedan ir muy relacionados con la estructura química de las antocianinas en estudio y así poder tener información más precisa.

### **5.11. Pruebas de estabilidad: temperatura**

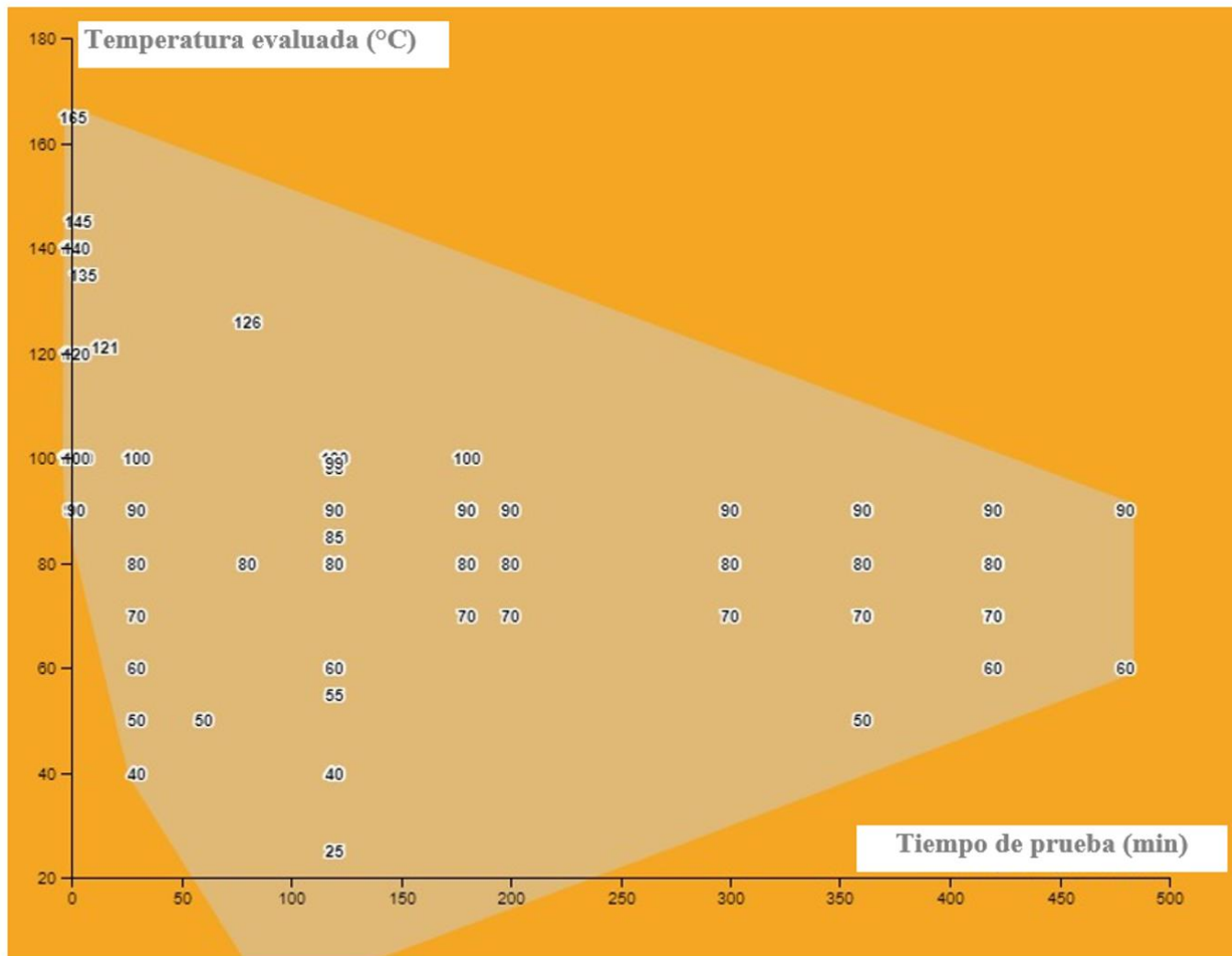
Para las pruebas de estabilidad, muchos estudios reportaron la estabilidad en términos de parámetros termodinámicos que podrían proporcionar una comprensión del posible uso de las antocianinas en diferentes matrices de alimentos y condiciones de almacenamiento o procesamiento. Unos de los parámetros fue la vida media  $t_{1/2}$  y la constante de velocidad  $k$ .

Con la idea de agrupar los estudios relacionados con la temperatura, en esta revisión se va a hablar de dos tipos de evaluaciones de estabilidad; estudios de estabilidad térmica y estudios de almacenamiento.

### **5.12. Estudios de estabilidad térmica**

Se refiere a tiempos relativamente cortos de hasta 500 min a temperaturas medianas a altas. La estabilidad térmica busca evaluar la resistencia a la temperatura de las antocianinas a diferentes tecnologías de alimentos que pueden existir en el procesamiento de un determinado producto.

En la **Figura 33** hay una relación entre todas las temperaturas evaluadas en las pruebas de estabilidad térmica vs los tiempos a los que fueron sometidos. La relación en la



**Figura 33.** Relación entre las temperaturas evaluadas y tiempos en las pruebas de estabilidad térmica. Gráfico: casco convexo. n=50. Referencias ver en

**Anexo 2.**

**Figura 33** muestra que a temperaturas mayores de 100 °C los tiempos de prueba son menores. Lo cual muy posiblemente se debe a que se tienen reportes de que a temperaturas altas y tiempos largos de exposición la degradación de antocianinas se incrementa (Arici et al., 2016; Peng et al., 2019; Sagdic et al., 2013; Yu & Lv, 2019).

También se observa que la mayoría de las pruebas fueron realizadas entre un rango de 60 – 90 °C. Este rango posiblemente fue evaluado teniendo en cuenta procesos térmicos frecuentes en alimentos como escaldado, cocción y pasteurización (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004). Otras temperaturas más elevadas que no fueron tan frecuentemente evaluadas incluyen otros procesos térmicos de alimentos como horneado y esterilización (121°C – 165°C) (**Figura 33**) (Guan & Zhong, 2015).

#### **5.12.1. Vida media y constante de velocidad en pruebas de estabilidad térmica**

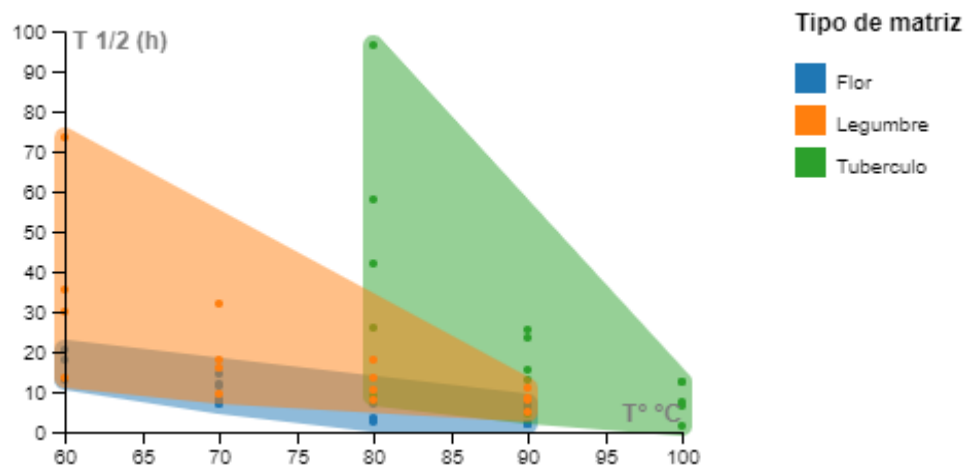
En general, lo observado en las pruebas de estabilidad térmica, es lo evidenciado por Loypimai et al., (2016) en antocianinas liofilizadas con maltodextrina a partir de *Oryza sativa* L. En esta investigación se observó un aumento significativo de la constante  $k$  (por tanto, una disminución de la vida media) de acuerdo con el incremento de la temperatura en un ensayo que incluyó temperaturas de 60 a 100°C.

En este ensayo el valor  $k$  fue representado también para antocianinas individuales como cianidina-3-*O*-glucosido, cianidina-3-*O*-

rutinosido, delphinidina, cianidina y pelargonidina. Se encontró que la cianidia-3-*O*-glucosido fue más estable que los demás derivados.

Es así, como de acuerdo con lo anterior, en términos globales la constante de velocidad aumenta y la vida media de las antocianinas disminuye conforme aumenta la temperatura a la que es expuesta.

En la **Figura 34** se observa esta tendencia para muestras de investigaciones de tubérculos, flores y legumbres vista en términos de vida media. Esta fue medida en horas a muestras de extracto sin ningún agente estabilizador.



**Figura 34:** Relación de la vida media vs la temperatura de prueba de estudios de antocianinas de flores, legumbres y tubérculos. Gráfico: casco convexo (Arici et al., 2016; J. Li et al., 2013; Peng et al., 2019; Sagdic et al., 2013).

Se puede ver que se obtuvieron vidas medias entre 10 horas y 100 horas a temperaturas desde los 60 hasta los 100 °C (Yu & Lv, 2019). En todos los tipos de matrices de

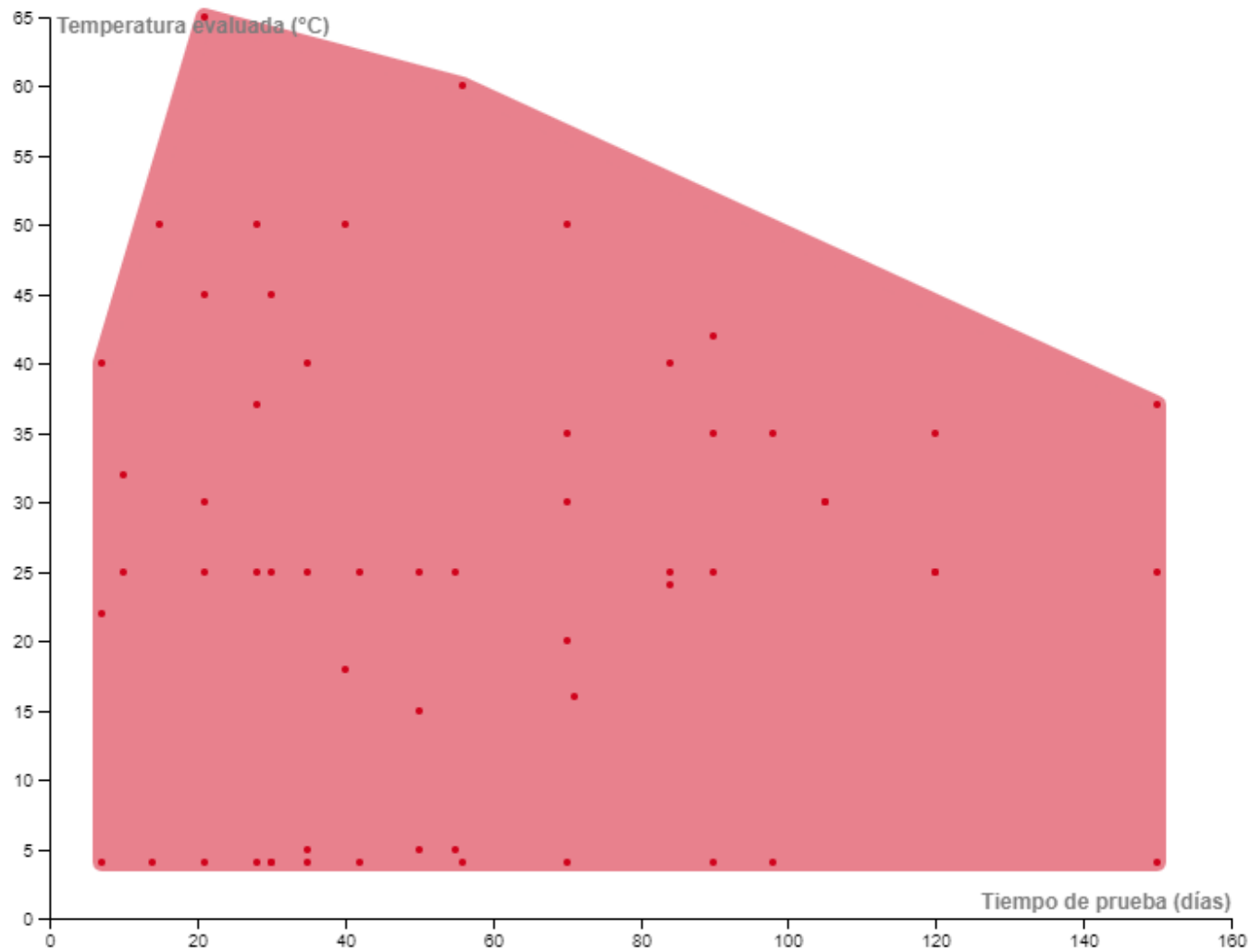
extracción se evidencia la disminución de la vida media con el incremento de la temperatura (**Figura 34**).

En la **Figura 34** también se observa diferencias que pueden existir en la estabilidad de antocianinas dependiendo de su fuente de extracción. En este caso las antocianinas de tubérculos y legumbres fueron más resistentes que las de las flores. Esto muy posiblemente se asocia a lo revisado previamente sobre la influencia de la estructura de las antocianinas en su estabilidad, además de demostrar la variabilidad de comportamientos que pueden existir entre diferentes fuentes.

### **5.13. Pruebas de almacenamiento**

El segundo tipo de pruebas se evalúan tiempos más largos de prueba de hasta 150 días y temperaturas desde la refrigeración. Estas pruebas buscan evaluar el comportamiento a diferentes temperaturas de acuerdo con el posible ambiente de almacenamiento de las antocianinas como ingrediente o de las antocianinas aplicadas en un producto. En la **Figura 35** se muestra la relación de tiempos y temperaturas reportadas.

Es importante tener en cuenta, que, a diferencia de las pruebas de estabilidad térmica, las pruebas de almacenamiento en su mayoría fueron realizadas después de realizar un proceso de estabilización de las antocianinas y varias de ellas realizadas con el polvo de antocianinas (liofilizados o por secado por aspersión). Por lo anterior, es que se observa que en la **Figura 35** los tiempos de evaluación son en días y no en horas como en las pruebas de estabilidad térmica.



**Figura 35.** Relación tiempo de prueba vs temperatura de las pruebas de almacenamiento realizadas en los estudios. Gráfico: casco convexo. n=62. Referencias ver en Anexo 2.

En **Figura 35** se observa una alta dispersión entre los tiempos y las temperaturas evaluadas. Los rangos van desde 4 °C hasta 65 °C desde los 5 hasta 150 días. Las temperaturas más evaluadas fueron 4 °C y 25°C asociadas a temperaturas de refrigeración y temperatura ambiente o climas templados.

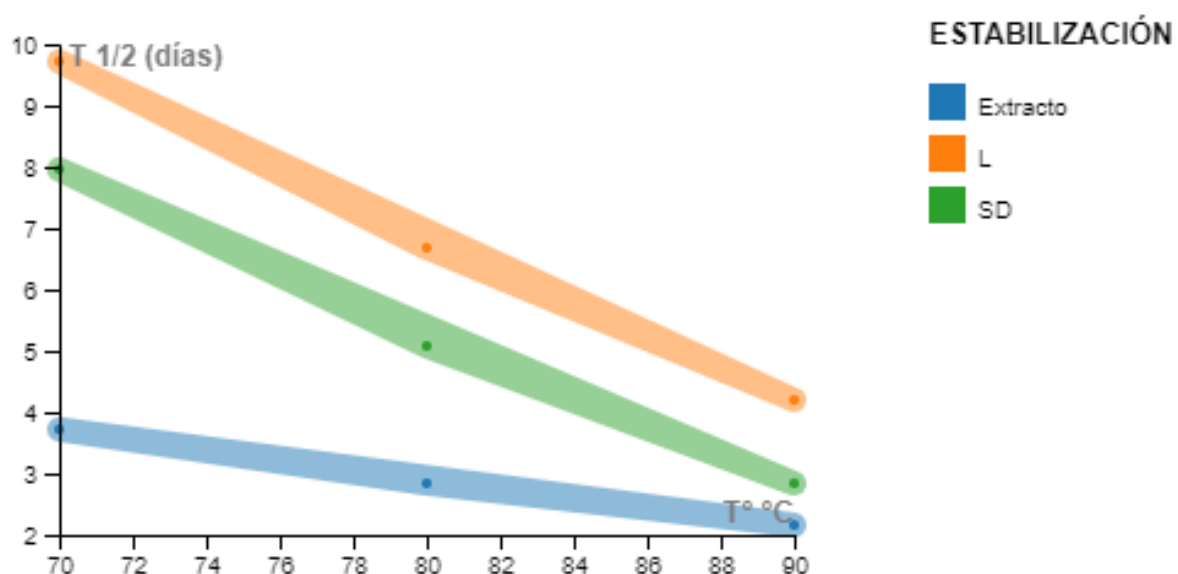
Zozio et al., (2011) reportaron el tipo de ambiente que se busca tras la temperatura de prueba: 4 ° C, representa el control positivo; 20 ° C, equivale a una temperatura promedio de clima templado; 30 ° C, para simular el almacenamiento en un ambiente tropical; y 50 ° C, para obtener un envejecimiento acelerado. A continuación, con el objetivo de contextualizar la estabilidad de antocianinas bajo condiciones de temperatura a través de diversas investigaciones se van a revisar los siguientes temas:

- Efecto de la microencapsulación.
- Efecto de diferentes agentes encapsulantes.
- Efecto de la fuente de extracción de maltodextrina.
- Efecto conjunto de la temperatura y la humedad relativa en la vida media.
- Efecto de protección de antocianinas aciladas a la temperatura

#### **5.13.1.Efecto de la microencapsulación en la estabilidad térmica**

Con el objetivo de mostrar el efecto de la estabilización por microencapsulación (goma arábica y maltodextrina como material de pared), en la **Figura 36** se evidencia una investigación que comparó la estabilidad de antocianinas de *Rosa rugosa* liofilizadas, pasadas por secado por aspersion y sin ningún proceso de estabilización

(Yu & Lv, 2019). Esto fue probado en solución acuosa a temperaturas de 70, 80 y 90 °C.



**Figura 36.** Efectos de la microencapsulación con secado por aspersion (SD) y liofilización (L) en la vida media de antocianinas extraídas desde *Rosa rugosa* sometidas a temperaturas de 70, 80 y 90 °C. Gráfico: casco convexo. (Yu & Lv, 2019).

En este ensayo (**Figura 36**) se observó la clara tendencia de disminución de la vida media de acuerdo con el incremento de la temperatura. Además, se evidencia que la vida media tal como se esperaba fue significativamente menor en el extracto sin microencapsular. El mejor desempeño de la muestra liofilizada se atribuye al entorno operativo de vacío con bajo contenido de oxígeno de la liofilización, en la metodología se reporta que esta se llevó a cabo con 0.45 mbar (Yu & Lv, 2019).



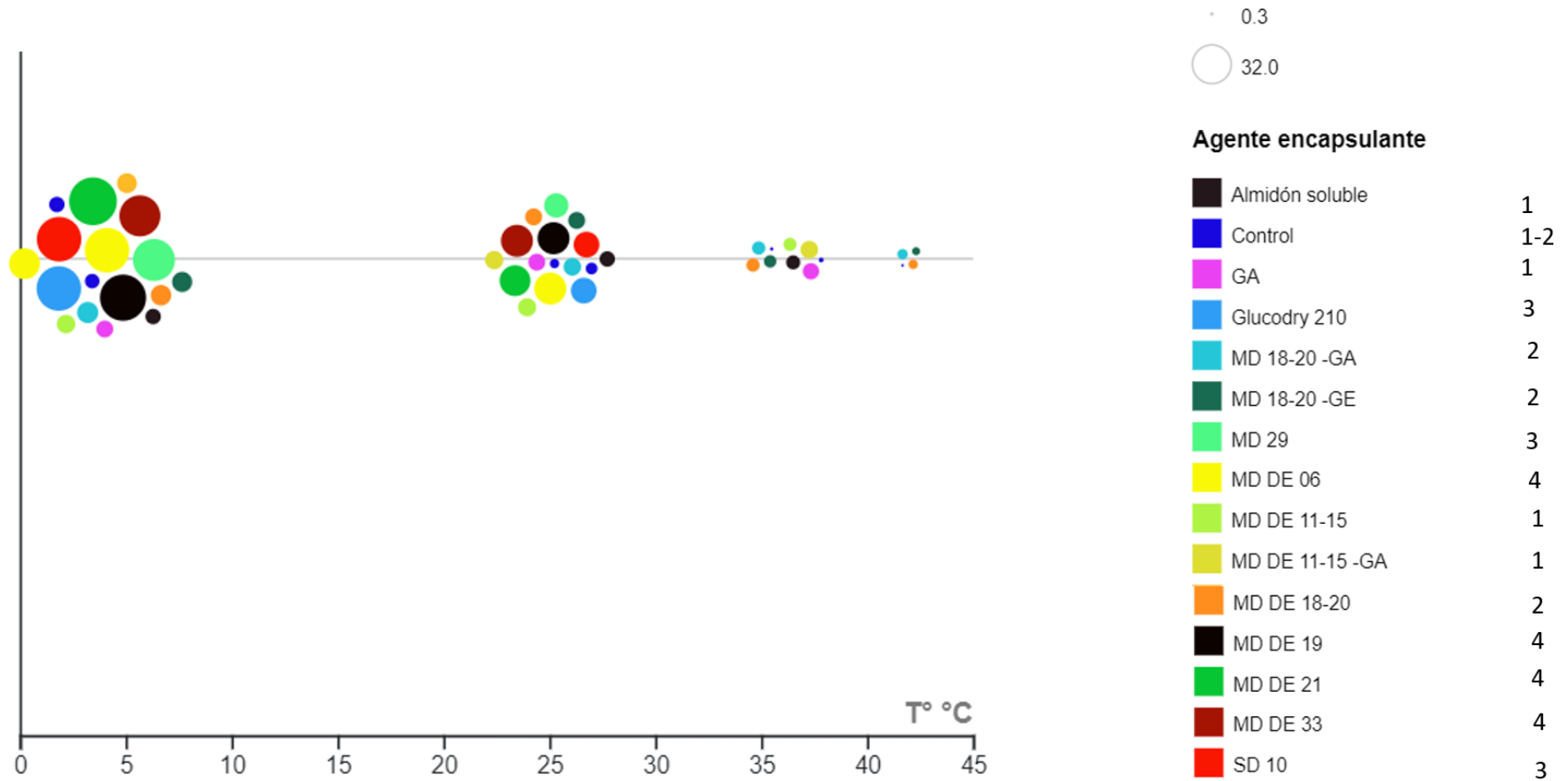
### 5.13.2. Efecto de diferentes agentes encapsulantes

Cinco investigaciones hicieron evaluaciones de estabilidad térmica en antocianinas extraídas de *Daucus carota*, *Hibiscus sabdariffa*, *Garcinia indica*, *Oryza sativa* L. y *Berberis vulgaris* teniendo en cuenta el agente encapsulante ocupado. Estas pruebas fueron llevadas a cabo en el producto en polvo secados por aspersión y su vida media fue medida en meses (Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Ersus & Yurdagel, 2007; Idham et al., 2012; Laokuldilok & Kanha, 2017; Nayak & Rastogi, 2010).

En la **Figura 37** puede verse que en la mayoría se usa maltodextrina (MD) en diferentes valores DE y en combinación con otros agentes encapsulantes. Además, también se grafica el control (sin agente encapsulante) que evaluaron algunos de los estudios. Las temperaturas evaluadas corresponden a temperaturas probables de almacenamiento de las antocianinas como materia prima 4 – 45°C.

Es importante tener presente que no todos los estudios evaluaron todas las temperaturas, por tanto, puede que se observen más o menos pruebas en cada temperatura (**Figura 37**).

*Hibiscus sabdariffa* (1), *Berberis vulgaris* (2), *Daucus carota* (3), *Garcinia indica*  
 Gráfico de Beeswarm



**Figura 37.** Resultados de prueba de estabilidad a diferentes temperaturas relacionadas con el agente encapsulante y la vida media. Las muestras fueron microencapsuladas por secado por aspersión y los polvos fueron almacenados en botellas de color café con tapa por el tiempo de duración de prueba (56 – 150 días). Las antocianinas fueron extraídas de *Hibiscus sabdariffa* (1), *Berberis vulgaris* (2), *Daucus carota* (3), *Garcinia indica* (4). Los colores reflejan los materiales de pared, en el eje x se define las temperaturas evaluadas, los círculos y su tamaño representan la vida media que puede ir de 0.3 meses a 32 meses. La parte lateral derecha muestra los números de identificación de las especies de extracción de 1 a 4 y en color rojo los que tuvieron mayor vida media a 4°C. Gráfico usado: parcela beeswarm. (Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Ersus & Yurdagel, 2007; Idham et al., 2012; Laokuldilok & Kanha, 2017; Nayak & Rastogi, 2010).

Al analizar los resultados obtenidos en la **Figura 37**, se evidencia la variedad de comportamientos frente a la temperatura que pueden encontrarse en las antocianinas. Esta variedad puede ser dada por la fuente de antocianinas, las condiciones de encapsulación, el agente encapsulante u otras variables de los ensayos que no fueron reportadas.

Igualmente, a pesar de esta variabilidad, se pueden observar comportamientos y tendencias que se esperaban en los ensayos como las siguientes:

- El comportamiento del control en cada una de las temperaturas evaluadas fue siempre entre los más bajos en cuanto a su vida media. Comprobando el efecto de protección de la encapsulación.

- A una temperatura de 4 °C se observan las mejores vidas medias en todos los agentes encapsulantes.
- La tendencia a disminuir la vida media con el incremento de la temperatura a pesar de contar con un agente estabilizador.

Con respecto a los agentes encapsulantes, se observa que se encontró que efectivamente estos influyen en el aumento de la vida media de las antocianinas en todas las temperaturas de prueba.

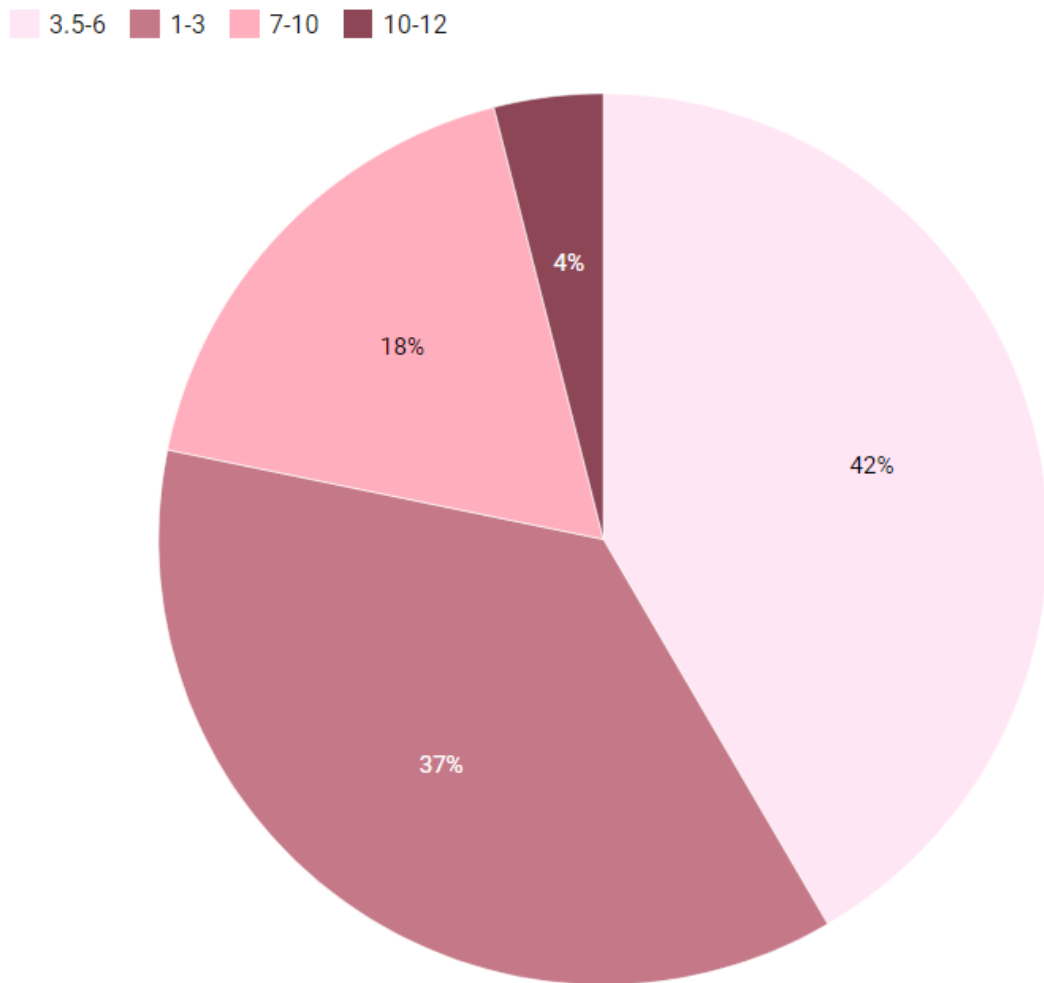
#### **5.14. Pruebas de estabilidad al pH**

Como es bien sabido, muchos estudios reportan que la estabilidad y el color de las antocianinas dependen de su estructura y esta es regulada por el pH de la solución.

El pH es otra característica que afecta fuertemente la estabilidad de las antocianinas. A pH bajo <3, las antocianinas existen en su forma muy estable de catión flavilio, a un pH creciente, este catión se transformará en pseudobase de carbinol incoloro y puede darse también la apertura del anillo para formar sucesivamente compuestos de chalcona (Peng et al., 2019).

De acuerdo con lo anterior, los estudios de pH para usar antocianinas como colorante natural se hacen necesarios en pro de asegurar la estabilidad del color. En esta investigación se consolidaron los valores de pH evaluados en los estudios de

estabilidad revisados (**Figura 38**). En dicha figura se evidencia que el rango de pH más estudiado esta entre 3,5 – 6 con un 42% y de 1-3 con un 37%.



**Figura 38.** Rangos de pH estudiados en las evaluaciones de estabilidad de las muestras de artículos revisados n=84. Referencias ver en **Anexo 2**.

El resultado anterior puede estar asociado a que las matrices de alimentos en general están dentro de un pH de 1 a 6. Por ejemplo, yogur pH 4,5 a 6, jugos de fruta generalmente 3,5, bebidas pH 3, entre otros.

Igualmente es visible en la **Figura 38** como el nivel de reportes de investigación disminuyen drásticamente a valores de pH más elevados (mayor a 7 hasta 12). Esto posiblemente se relaciona con la baja estabilidad de las antocianinas en estos rangos de pH.

En la investigación realizada por Assous et al., (2014) se comprueba el efecto del incremento del pH sobre las antocianinas. Ellos probaron el efecto del pH en la retención de antocianinas extraídas de *Daucus carota*. Los valores de pH probados fueron de 1 a 10 por un tiempo de 30 minutos.

Ellos lograron ver que el incremento del pH de 1 a 3 causa una pequeña degradación de las antocianinas (3%), pH 5,0 la degradación sube a 19% y a un pH de 6 y 7 la degradación es del 34% y 46 % respectivamente.

Sui et al., (2014) también mostraron el efecto del pH pero sobre antocianinas aisladas, cianidin-3-rutinoside y cianidina-3-glucoside. Vieron que generalmente las antocianinas son estables a bajo pH e inestables a alto pH. Observaron una degradación dramática a un pH de 6 y a un pH de 7 y 8 incluso con un corto tiempo de tratamiento térmico solo se observaron trazas de antocianinas.

También es importante resaltar un hallazgo que ha sido reportado por Jie et al., (2013). Ellos vieron que las antocianinas tenían una  $t_{1/2}$  más alta a pH 3 y 4 que a pH 2. Esto coincide con lo reportado por otros autores que han estudiado extractos desde papa dulce, maíz morado y colorantes de zanahoria morada que son más estables a pH 3 que

a pH 1 a pesar de ser pH más ácidos. Estas diferencias en comportamientos de antocianinas podrían atribuirse a diferencias en su estructura vs otras antocianinas.

### **5.15. Relación temperatura y pH**

La relación entre la temperatura y el pH fue ampliamente estudiada en varias investigaciones debido a su acción conjunta (Sui et al., 2014). En esta sección se revisarán varios de estos estudios que muestran de forma general el comportamiento de las antocianinas bajo estas dos variables.

Inicialmente, a continuación, relacionaremos las conclusiones de cinco investigaciones:

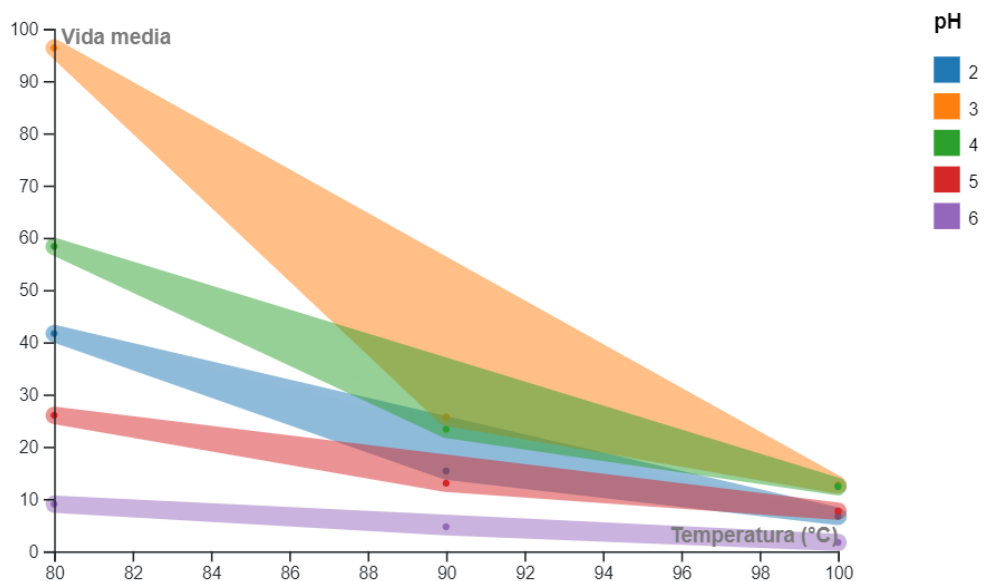
- Una disminución en el pH puede reducir los daños causados por un tratamiento térmico (Arici et al., 2016; Peng et al., 2019; Sui et al., 2014). En el caso de Aguilera et al., (2016) reportaron que el efecto de protección por pH se observó en sus estudios a un pH de 3.5 pero no a un pH de 2.5.
- En procesos donde hay cocción es importante mantener pH bajo. Tener un valor de pH máximo 3 previene la degradación de las antocianinas y al aumentarlo a pH 4 genera un efecto fuerte en la estabilidad (H. Xu et al., 2015).
- A una temperatura de 100 °C entre un pH 2 y un pH 4 se observa que la destrucción de antocianinas durante el calentamiento es

más rápida en presencia de oxígeno ya que puede presentarse una hidrólisis del enlace entre la aglicona y el azúcar en la posición 3 (Assous et al., 2014).

Para representar la anterior relación entre la temperatura y el pH de forma gráfica se van a presentar los dos siguientes casos de estudio 1 y 2:

### 5.15.1.Caso de estudio 1

Relacionando el efecto de la temperatura y el pH con el valor de vida media, en la **Figura 39**, se muestran los resultados que fueron tomados de una investigación con antocianinas de *Ipomoea batata* (Jie et al., 2013).



**Figura 39.** Relación de temperatura de prueba vs vida media y pH de antocianinas extraídas desde *Ipomoea batata*. Gráfico: casco convexo (Jie et al., 2013).

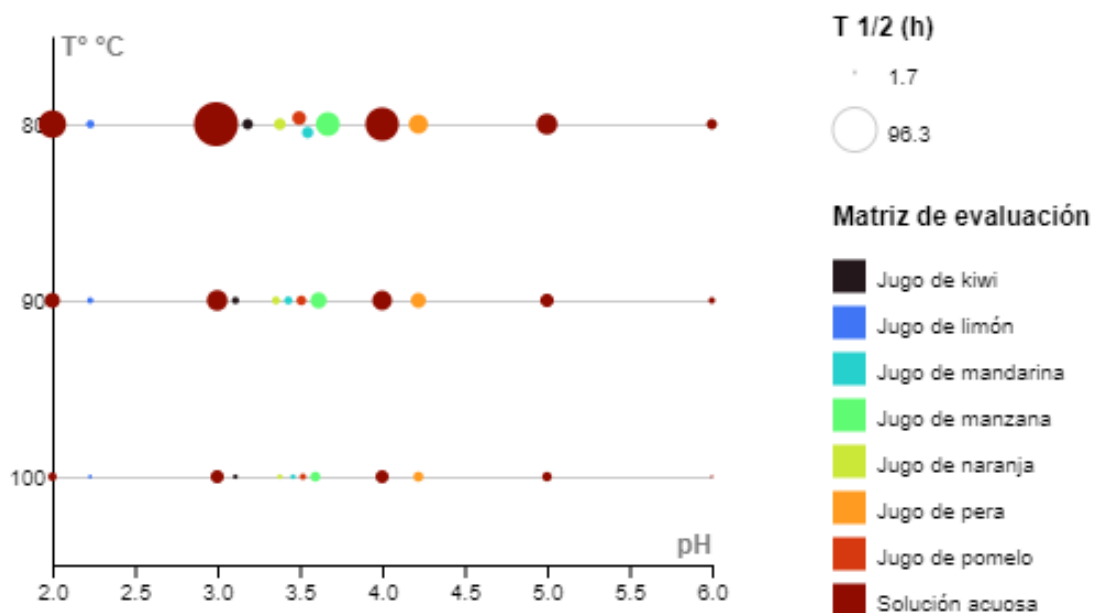


A partir de dicha figura (**Figura 39**) es posible ver la tendencia en los ensayos realizados. Se observa que a pH entre 3 y 4 se tiene una vida media mayor a todas las temperaturas evaluadas y con el incremento del pH la tendencia fue a tener las vidas medias más bajas. Lo anterior muestra el efecto protector que los pH más bajos pueden tener sobre la estabilidad térmica de las antocianinas.

En la **Figura 39** se observa una excepción y es la vida media a pH 2. Se menciona por los autores Jie et al., (2013) que en previos estudios ya han reportado que las antocianinas de *Ipomoea batata*, *Zea mays* y *Daucus carota* tienen mayor estabilidad a pH 3 que a pH 1. En el caso de las antocianinas de *Oryza sativa*, se reporta que su degradación aumenta con el incremento del pH desde 1 hasta 6. Esto puede ser dado por las diferentes estructuras de antocianinas que puede tener cada una de las fuentes reportadas (Jie et al., 2013).

#### **5.15.2.Caso de estudio 2**

Este estudio realizado por Jie et al., (2013) y tuvo como objetivo ver el comportamiento de las antocianinas a diferentes valores de pH en modelos de jugos (manzana, pera, toronja, naranja, mandarina, kiwi y limón). Estos jugos fueron sometidos a temperaturas de 80, 90 y 100 °C. El pH de los jugos estaba en un valor de pH entre 2.23 y 4.22 (**Figura 40**).



**Figura 40.** Estabilidad de antocianinas adicionadas a muestras de jugos de frutas. Gráfico usado: gráfico de burbujas. En el eje "x" se representa los valores de pH evaluados, en el "y" se visualizan las temperaturas organizadas de abajo hacia arriba de acuerdo con las que tuvieron menor a mayor valor de vida media. La vida media está representada por los tamaños de los círculos y sus colores son cada una de las muestras de jugo de frutas. (Jie et al., 2013)

En este estudio se observa que la mejor vida media en todas las temperaturas fue encontrada en la solución acuosa control que en los jugos de fruta. En las muestras de solución acuosa igual se logra evidenciar que a menor pH en todas las temperaturas evaluadas, su vida media fue mayor y con el incremento del pH la vida media disminuyó.

Con respecto a los jugos de fruta, se observa que a mayor temperatura de tratamiento, la vida media disminuye para todas las muestras. En cuanto al pH, no se observa una tendencia a que aquellos jugos con menores valores tuvieran una mejor vida media, es más, el jugo de limón a pesar de ser la muestra con menor valor de pH (2,23) fue el que tuvo menor vida media en todas las temperaturas evaluadas.

Lo anterior puede demostrar que el comportamiento de las antocianinas aplicadas a una matriz de alimentos en donde interaccionan con otro tipo de compuestos no necesariamente va a tener los resultados iguales a los observados en una solución acuosa. Por tanto, resulta necesario desafiar las estabilidades además de soluciones acuosas en modelos alimentarios.

#### **5.16. Pruebas de estabilización por copigmentación**

La copigmentación es otro de los métodos que se han usado para la estabilización de antocianinas, por tanto, en el **Anexo 6** de este trabajo se decidió darle un espacio y mostrar brevemente 5 investigaciones que relacionan la adición de diferentes copigmentos a soluciones de antocianinas con su mejora en la estabilidad a diferentes temperaturas y condiciones luz y oscuridad.

#### **5.17. Pruebas de color**

En diversos estudios se evaluó el color como variable de respuesta en las pruebas de estabilidad. Los estudios que se encuentran reportados evalúan el efecto de agentes encapsulantes en el color, de la temperatura, pH, tiempo de almacenamiento,

comparación entre secado por aspersión y liofilización, condiciones de operación del secado por aspersión y adición de copigmentos.

En esta revisión se encontraron muchos reportes bajo los parámetros del sistema CIELab y Munsell, este último sistema incluye parámetro Chroma que es la saturación de color y ángulo Hue ( $H^\circ$ ) que es el color cromático percibido determinado por longitud de onda (Cortez et al., 2017).

A continuación se va a revisar el efecto de diferentes factores del proceso de obtención o aplicación de antocianinas que pueden afectar sus parámetros de color. Los factores que se van a revisar son:

- Efecto de los procesos de estabilización y agentes encapsulantes: liofilización y secado por aspersión. Efecto del agente encapsulante y el almacenamiento.
- Efecto de la aplicación de modelos de productos y el almacenamiento.

En el **Anexo 7 y 8** se van a revisar otros efectos sobre el color debido a:

- Efecto condiciones de secado por aspersión.
- Efecto del valor DE.

#### **5.17.1.Efecto de los procesos de estabilización y agentes encapsulantes: liofilización y secado por aspersión**

Kuck & Noreña, (2016) y Yu & Lv, (2019) hicieron ensayos para comparar el efecto en el color del secado por aspersión y la liofilización. En la **Tabla 10** se observan los resultados expresados en términos CIELab.












Al ver la tabla, lo primero que se observa es el impacto en el valor  $L^*$  (luminosidad) en el ensayo 1 en el proceso por liofilización el cual arrojó polvos más oscuros que el secado por aspersión, los valores  $L^*$  entre los 20 y los 22 vs 37 y 40 respectivamente.

Los resultados de  $a^*$  y  $b^*$  evidenciaron que los resultados se ubicaron en el cuarto cuadrante ( $+a^*$ ,  $-b^*$ ). Este cuadrante tiene tendencia de ser de azules y rojos y efectivamente las antocianinas se encuentran en este cuadrante (Kuck & Noreña, 2016).

Según Kuck & Noreña, (2016), durante la liofilización, el color de los productos se pueden relacionar con el tamaño de los poros de la superficie. El congelamiento avanza sobre la formación de cristales de hielo y se altera la estructura de los poros pasada la sublimación de agua.

En cuanto a la influencia de los materiales de pared esta no fue significativa en la liofilización. En el secado por aspersión si se observó que en las muestras con povidona se disminuyó la  $L^*$  y por ende los polvos fueron más oscuros. Los autores atribuyen esto a la formación de compuestos oscuros durante el secado a altas temperaturas (Kuck & Noreña, 2016).

**Tabla 10 .** Efecto de los procesos de liofilización y secado por aspersión en los parámetros CIELab de antocianinas de *Vitis labrusca* var Bordo y *Rosa rugosa*. GA (goma arábica), PD (Polidextrosa), PHGG (goma guar hidrolizada), L (liofilización), SD (secado por aspersión).

Ensayo	Matriz de extracción	Encapsulación	Tipo de muestra	Color	Parámetros de color			Referencia
					$L^*$	$a^*$	$b^*$	
1	<i>Vitis labrusca</i> var. Bordo	SD	5% GA-5% PD		38.06±0.60	46.28±0.23	-7.42±0.13	(Kuck & Noreña, 2016)
			10% GA		40.17±0.21	46.29±0.05	-9.57±0.02	
			5% PHGG Y 5% PD		37.89±1.11	46.03±0.11	-5.91±0.02	
		L	10% PHGG		40.33±0.14	46.22±0.12	-6.33±0.06	
			5% GA-5% PD		22.46±0.13	27.11±0.13	0.44±0.07	
			10% GA		22.28±0.12	28.36±0.11	2.44±0.03	
			5% PHGG + 5% PD		20.63±0.44	25.36±0.24	-1.02±0.02	
10% PHGG		22.60±0.15	29.08±0.24	0.46±0.05				
2	<i>Rosa rugosa</i>	L	Goma arábica +maltodextrina		66.83±0.91	17.40±0.72	1.04±0.21	(Yu & Lv, 2019)
		SD			77.57±0.34	11.70±1.28	5.68±0.52	
		Na		Extracto sin encapsulante		27.39±0.86	26.01±1.08	

Las diferencias entre los valores  $a^*$  de secado por aspersión y liofilización fueron muy distanciadas y en secado por aspersión fueron mayores lo cual se logra ver en la presencia de un color más profundo. En cuanto a la diferencia entre los valores  $b^*$  no fue relevante (Kuck & Noreña, 2016). Por último, este estudio también obtuvo los valores para hue y para chroma. En estos fue posible ver que hue estaba entre 348 y 359 lo cual confirma la tendencia de las muestras hacia el rojo. En cuanto al Chroma fue mayor en secado por aspersión indicado una alta saturación o un color más puro, lo cual es una de las características deseables (Kuck & Noreña, 2016).

En la misma tabla (**Tabla 10 ensayo 2**) se observa que el color de la liofilización es más oscuro que el del secado por aspersion, aunque no en la misma significancia que la investigación anterior. Los autores atribuyen el color oscuro de la liofilización de acuerdo con las propiedades de dispersión de la luz, los espacios vacíos después de la sublimación de cristales de hielo dieron como resultado una apariencia más oscura. En este ensayo los colores entre la muestra liofilizada y secada por aspersion son más homogéneos y más claros según por el color blanco de los agentes de encapsulación usados (Yu & Lv, 2019).

#### **5.17.2. Efecto del agente encapsulante**

En la **Tabla 11**, se observa el efecto del agente encapsulante sobre los parámetros de color. Es evidente que en todos los ensayos el tipo de agente encapsulante afectó los parámetros de color. En el ensayo 1 (**Tabla 11**) además de ver el color resultante después del proceso de encapsulación con el control, se evidencia la protección que además otorga el material de pared a la estabilidad del color en el tiempo de almacenamiento (70 días). Este ensayo fue llevado sobre las muestras en polvo.

Es posible ver según el  $\Delta E$ , que el material de pared con el mejor comportamiento fue la combinación entre MD20 y MD7 seguido por MD20. En este ensayo se evidencia que a pesar de que anteriormente se había reportado sobre la combinación ideal entre maltodextrina y goma arábica, en este ensayo esa fue la mezcla con los resultados más elevados en  $\Delta E$  aun mayores que el control (Jafari et al., 2016).

**Tabla 11.** Efecto de los diferentes agentes encapsulantes sobre los parámetros de color Maltodextrina (MD), goma arábica (GA), gelatina (GE), aislado de proteína de soya (SPI), pectina (PEC). Medición en  $\Delta E$ .

Ensayo	Matriz de extracción	Encapsulación	Tipo de muestra	Evaluación en el tiempo		$\Delta E$	Referencia
				Tiempo inicial	Tiempo final (días)		
1	<i>Crocus sativus</i>	FD	MD DE 16.5-19-5 (M20)		70	4,68	(Jiménez-Aguilar et al., 2011)
			MD DE 4-7 (M7)		70	8,29	
			M20)		70	14,7	
			Goma arábica + (M20)		70	9,03	
			Goma de semillas de berro + M20		70	10,3	
2	<i>Jaboticaba pomace</i>	FD	Control		90	5.34	(Pereira Souza et al., 2017)
			MD 20%		90	10.41	
			MD 15% +PEC 5%		90	9.13	
			MD 15% + SPI 5%		90	6.54	
3	Musa ABB	SD	MD 10% + PEC 5% + SPI 5%		21	6.64	(Begum & Deka, 2017)
			MD		21		



Los autores mencionan que los valores de  $\Delta E$  pueden estar asociados al resultado de reacciones adversas del material de pared con las antocianinas o de diferentes antocianinas entre si durante el tratamiento térmico (secado por aspersión) (Jiménez-Aguilar et al., 2011). Igualmente se observa de acuerdo con el control, que todos los agentes encapsulantes y sus combinaciones a excepción de MD – GA tuvieron acción protectora de los parámetros de color de las muestras.

En el ensayo 2 y 3 (**Tabla 11**) igualmente se evidencia que el  $\Delta E$  pasado el tiempo de almacenamiento tuvo diferencias significativas y todos los cambios son evidentes al ojo humano. Se observa que la menor diferencia de color en el ensayo 3 fue dada por el agente encapsulante MD, las combinaciones de MD con pectina y aislado de proteína de soya fueron las más altas.

Con respecto a lo anterior, es importante recordar que se había reportado que las combinaciones entre agentes encapsulantes era recomendadas en pro de mejorar la estabilidad de las microcapsulas (Mahdavi, et al., 2016). Con este ensayo revisado, en el que las menores variaciones de color en el tiempo se han visto en microcapsulas con materiales de pared únicos y no combinados, se muestra la importancia de realizar análisis de colorantes naturales que incluyan también parámetros de color antes de decidir la mejor opción de encapsulación.

Adicional a lo anterior, también es evidente que los comportamientos entre las diferentes antocianinas pueden variar, en este caso la mejor opción fue un material de pared único, sin embargo, para otro tipo de antocianinas quizá se requiera combinado.

Una explicación que se ajusta a este y a varios casos que se han revisado durante este trabajo, es que en la naturaleza existen más de 500 antocianinas con diferentes estructuras químicas, pueden variar entre el número de grupos hidroxilados, la naturaleza y el número de azúcares enlazados, los carboxilatos alifáticos o aromáticos enlazados al azúcar presente en la estructura y la posición de estos enlaces dan como resultado la amplia variedad de antocianinas que podrán comportarse de diferentes formas a lo definido teóricamente en algunos casos (Arici et al., 2016).

### **5.17.3. Estudios realizados en productos terminados**

Son pocos los estudios de estabilidad que se encontraron que fueron realizados en productos alimenticios. La idea es resaltarlos teniendo en cuenta que un alimento real tiene azúcar, sal, grasa, proteínas, entre otros que también son variables que pueden afectar la estabilidad. Estos estudios se encuentran consolidados en la **Tabla 12**.

En el ensayo 1 se visualiza la adición de extractos de 3 flores y un colorante artificial a un yogur. Se tuvo como control un yogur sin aditivos. Se observa que el valor  $L^*$  del control es más alto seguido por el yogur con adición de *Centaurea cyanus*, E163, *Rosa damascena* y *Dahlia mignon* (**Tabla 12 ensayo 1**).

**Tabla 12.** Evaluación de parámetros de color de antocianinas aplicadas a producto.

Ensayo	Matriz de extracción	Solución de prueba	Agente en capsulante	Porcentaje de adición del colorante al producto (%)	Temperatura de prueba (°C)	Tiempo de prueba		Parámetros CIELab			ΔE	Referencia
						Luz	Tiempo inicial (días)	Tiempo final (días)	L*	a*		
1	Control		Nd	nd	Nd			93±1	-	9.8±0.4	nd	(Pires et al., 2018)
	<i>Rosa damascena</i>			0.15				88±1	2.2±0.1	9-0±0.3		
	<i>Dahlia mignon</i>	Yogur	Ninguno (Liofilizadas)	0.05				84±1	2.1±0.3	17.7±0.4		
	<i>Centaurea cyanus</i>			0.1				90±1	-1-1±0.2	9.5±0.5		
	Colorante comercial E163		Nd	0.02				89±1	3.1±0.5	6.5±0.5		
2	<i>Prunus nepalensis L.</i>	Yogur microfluidizado	Ninguno (Liofilizadas)	0.08	4		14			4.8		
				0.10			14		Nd	4.3		
				0.20			14			4.2		
	Control colorante comercial	Yogur	Nd	nd	4		14		nd	1.8		(Swet et al., 2019)
2,1	<i>Prunus nepalensis L.</i>	Jarabe de sohiong	Ninguno (Liofilizadas)	0.20	Ambiente		90			8.2		
				0.30			90		Nd	4.4		
				0.80			90			3.5		
				Colorante comercial		Nd	nd		90			
3	<i>Rubus glaucus Benth</i>	Bebida	Liofilización sin MD	nd	16	Si	71			23.07		
						No	71		10.18			
						Si	71		14.09			
						No	71		8.36			
						Si	71		8.4			
	Colorante comercial Rojo 40	Nd			No	71			2.24			
4	<i>Myrciaria jaboticaba</i>	Macarons horneados junto con el colorante a 130 °C 13 min	Nd	nd	5		6			1.54		(Albuquerque et al., 2020)
	Control E163						6			1.41		

En contraste el control tuvo la menor relación de  $a^*$  seguido por *Centaurea cyanus* y en los demás tuvo un valor más alto sin tener diferencias significativas entre ellos lo cual indica que la *Rosa damascena* y el extracto de Dahlia podrían ser alternativas potenciales para E163 (**Tabla 12 ensayo 1**) (Pires et al., 2018).

En la **Tabla 12 ensayo 2** se visualiza que probaron las antocianinas de *Prunus nepalensis* en yogur. Además, ensayaron diferentes niveles de dosificación. Se tuvo un control con colorante comercial. Esta prueba fue evaluada por 14 días. En los resultados se logró evidenciar que el nivel de dosificación afecta significativamente los valores  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$ , además del  $\Delta E$ . Se evidenció que la variación del  $\Delta E$  de color es menor a medida que aumenta la dosificación (Swier et al., 2019).

Los autores atribuyen lo anterior al aumento de la concentración de antocianinas con el aumento de la dosificación lo cual promueve las auto asociaciones y mejora los efectos de la copigmentación. Igualmente, se observa que el control con colorante comercial tiene el mejor resultado de  $\Delta E$  por tanto su estabilidad fue mejor en los 14 días de almacenamiento (Swier et al., 2019).

En el ensayo 2.1 (**Tabla 12**), se visualiza la adición de antocianinas extraídas también de *Prunus nepalensis* pero en Sohiong. En este se observa que el color fue un purpura más intenso y también fue aumentando con el nivel de dosificación. Igualmente se observa que a medida que aumenta la dosificación también disminuye el  $\Delta E$ . El tiempo de prueba en este ensayo fue de 90 días. También se observó que el  $\Delta E$  del control y de la muestra con la adición de 0,8 % fue similar hasta los 90 días. Este resultado puede

significar la posibilidad de uso de este colorante a este nivel de dosificación (Swier et al., 2019).

En el ensayo 3 (**Tabla 12**), se visualiza una prueba con antocianinas de *Rubus glaucus* a un modelo de bebida. En este ensayo se hizo una comparación entre un colorante artificial, rojo 40, muestras microencapsuladas con maltodextrina y sin microencapsular. Adicional la muestra estuvo en almacenamiento por 71 días en presencia y ausencia de luz (Estupiñan et al., 2011).

La comparación se realiza con base en el  $\Delta E$  y se evidencia que este es mayor en las muestras sin adición de maltodextrina comprobando el rol protector de la microencapsulación durante el almacenamiento del producto. Además, también se evidencia que el  $\Delta E$  de todas las muestras incluyendo el colorante artificial, fue mayor en presencia de luz que en oscuridad. Para el caso de las antocianinas esto demuestra la sensibilidad de estas a la presencia de luz y la necesidad de diseñar un envase que proteja el producto de esto (**Tabla 12 ensayo 3**). De acuerdo con los autores el parámetro  $L^*$  fue de los que más aumento en este ensayo y lo reportan como una indicación de la decoloración de las antocianinas. Con respecto al  $\Delta E$  obtenido todos los cambios en las muestras puede ser detectadas por el ojo humano (Estupiñan et al., 2011).

El último ensayo (**Tabla 12 ensayo 4**), es con antocianinas de *Myriciaria jaboticaba* con un control, colorante E163. Este ensayo tiene una particularidad y es que se realizó

en un producto de pastelería francesa los macarons y por tanto fue horneado a 130 °C por 13 minutos (Albuquerque et al., 2020).

Como se evidencia en la **Tabla 12 ensayo 4**, los macarons formulados con antocianinas mostraron una coloración distinta a la del control. Esta diferencia en el color, según los autores puede estar relacionada a la degradación de las antocianinas durante el tiempo de horneo a 130 °C. Igualmente, los autores destacan que puede ser de interés utilizar este aditivo como ingrediente ya que su  $\Delta E$  fue bajo en los 6 días de almacenamiento (Albuquerque et al., 2020)

## 6. CONCLUSIONES

Este trabajo presentó una mirada general del procesamiento de las antocianinas y su uso como colorante natural. Se evidenció la amplia y variada información que se encuentra en la literatura científica a nivel de fuentes vegetales de antocianinas, tecnologías, condiciones de operación y resultados de los procesos de extracción, estabilización, pruebas de estabilidad y pruebas de color.

Las mayores fuentes de obtención de antocianinas fueron los frutos y las flores con un 48 y 32 % respectivamente. También se tuvieron reportes de tubérculos, cereales y hortalizas. Las especies más reportadas fueron en su orden *Hibiscus sabdariffa*, *Daucus carota*, *Zea mays*, *Oryza sativa*, *Ipomoea batatas* y *Vaccinium corymbosum*.

En cuanto a las tecnologías de extracción, la extracción con solvente y la extracción con ultrasonido fueron las más reportadas con un 69 y un 23 % respectivamente. También se reportaron más tecnologías de extracción con líquidos presurizados, asistida por microondas, extracción enzimática, calor óhmico y extracción con fluidos súper críticos.

Por su parte, la estabilización fue llevada a cabo por microencapsulación y copigmentación con un 84% y una 16 % de los reportes respectivamente. Dentro de la microencapsulación, la liofilización y el secado por aspersión fueron las tecnologías más usadas. A partir del análisis de las pruebas de color y estabilidad a pH y temperatura, varios autores se muestran optimistas para continuar ampliando el

portafolio de fuentes de antocianinas para uso como colorante natural debido a resultados favorables.

En cuanto a las condiciones de operación tanto en la extracción como la estabilización, teniendo en cuenta los resultados de esta revisión, se concluye que estos procesos deben ser optimizados previo a definir el método óptimo. Esto debido al impacto que tienen sobre la calidad del extracto diferentes condiciones (temperatura, tiempo, solvente, agente encapsulante, entre otros), la amplia diversidad de metodologías y resultados que publican diferentes investigaciones y la diversidad de estructuras de fuentes de antocianinas que existen y que no se comportan de la misma forma en los procesos de obtención y estabilización.



## **7. PERSPECTIVAS PARA EL FUTURO**

La expectativa de este trabajo es poder ofrecer a futuras investigaciones la consolidación, el análisis y la evaluación de información científica de los procesos de extracción, estabilización y resultados de pruebas de estabilidad de las antocianinas con mirada a ser usadas como colorante natural. Esta evaluación podrá permitir definir metodologías de análisis de antocianinas de forma más eficaz al dar al lector la consolidación de datos, análisis de resultados y fundamentaciones teóricas abstraídas de diversas publicaciones.

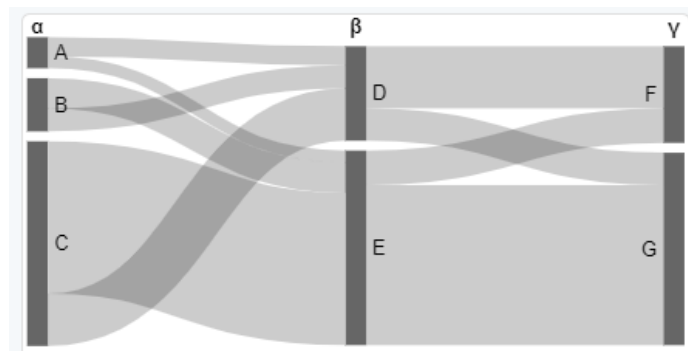
Adicional podrá también ser una fuente de información para comparar y evaluar resultados obtenidos por otros investigadores. Tanto en temas asociados a las tecnologías de extracción y estabilización como las pruebas de estabilidad.

También será una herramienta de inicio para nuevos investigadores que tengan interés en estudiar las antocianinas en general y antocianinas para ser usada como colorante natural. Esto debido a que se ofrece información fundamental básica y robusta plasmada de forma sistemática y esquemática para facilitar los análisis y las evaluaciones.

## ANEXO 1

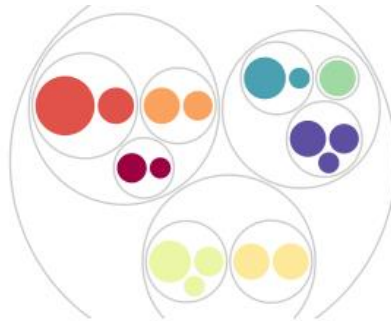
### GRÁFICOS USADOS

- Diagrama aluvial: correlaciones y proporciones. Muestra correlaciones entre dimensiones categóricas que las representan como flujos, vinculando visualmente categorías con elementos compartidos. Cada rectángulo representa un valor único en la dimensión seleccionada, su altura es proporcional a su valor. Las correlaciones se representan con líneas curvas cuyo ancho es proporcional a su valor. La **Figura 41** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



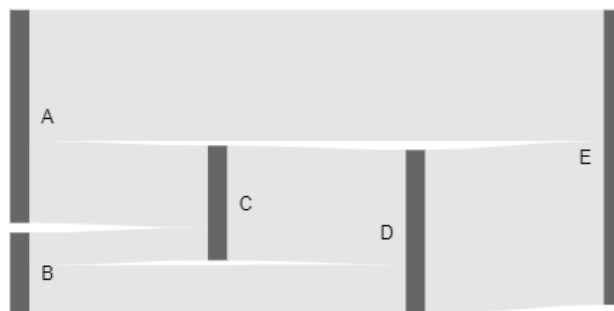
**Figura 41.** Estilo de gráfico aluvial

- Circulo de embalaje: jerarquías y proporciones. Muestra los valores de los nodos de una estructura jerárquica. La estructura jerárquica se representa mediante círculos anidados. Una dimensión cuantitativa adicional con el tamaño y una dimensión cuantitativa o categórica con el color. La **Figura 42** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 42.** Estilo de gráfico círculo de embalaje

- Diagrama de Sankey: redes. Representa flujos entre nodos de una red. Los nodos se representan como rectángulos, la altura representa su valor. Los flujos se representan con líneas curvas cuyo ancho es proporcional a su valor. La **Figura 43** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 43.** Estilo del diagrama de Sankey

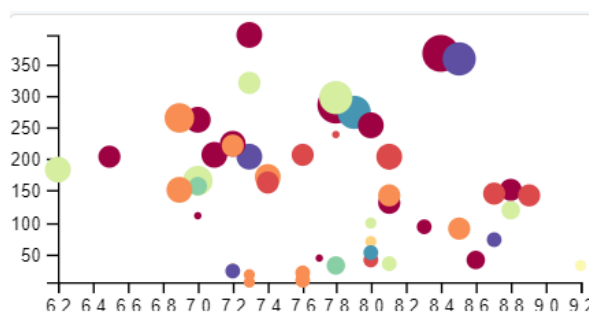
- Gráfico de matriz: correlaciones y proporciones. Permite comparar dos dimensiones categóricas, disponiéndolas en los ejes horizontal y vertical. Cada glifo (cuadrado o círculo) representa una posible correlación entre las dos dimensiones. Las variables cuantitativas asociadas se pueden representar con

tamaño y / o color. La **Figura 44** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 44.** Estilo de gráfico de matriz.

- Gráfico de burbujas: correlaciones y proporciones. El diseño básico es un diagrama de dispersión, que permite ver correlaciones entre dos dimensiones continuas. Una dimensión cuantitativa adicional con el tamaño y una dimensión cuantitativa o categórica con el color. La **Figura 45** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 45.** Estilo de gráfico de burbujas.

- Diagrama de rayos solares: Muestra datos estructurados jerárquicamente y una dimensión cuantitativa relacionada mediante círculos concéntricos. El círculo en el centro representa el nodo raíz, con las jerarquías moviéndose hacia afuera

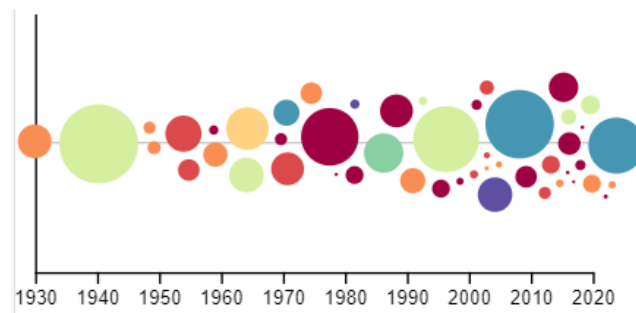
desde el centro. El ángulo de cada arco corresponde a la dimensión cualitativa.

La **Figura 46** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



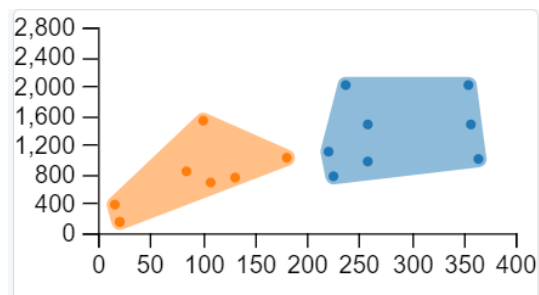
**Figura 46.** Estilo de gráfico de rayos solares.

- Parcela Beeswarm: distribución, proporciones. Muestra la distribución de elementos en dimensiones continuas. Cada línea se representa con un punto colocado en el eje horizontal. La dimensión vertical se utiliza para evitar superposiciones entre círculos, mostrando su distribución. El área de puntos se puede utilizar para codificar una dimensión cuantitativa adicional y una dimensión cuantitativa o categórica con color. La **Figura 47** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 47.** Estilo de gráfico de Beeswarm.

- Casco convexo: correlaciones y proporciones. En matemáticas, el casco convexo es la forma convexa más pequeña que contiene un conjunto de puntos. Aplicado a un diagrama de dispersión, es útil para identificar puntos que pertenecen a la misma categoría. La **Figura 48** muestra un ejemplo de cómo se representa la gráfica.



**Figura 48.** Gráfico de casco convexo.

## ANEXO 2

### FUENTES BIBLIOGRÁFICAS DE FIGURAS

**Tabla 13.** Fuentes bibliográficas de figuras.

Figura	Fuentes bibliográficas
<b>17 y 18</b>	<p>(Ab Rashid et al., 2021; Abou-Arab et al., 2011; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Albuquerque et al., 2020; Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Bao et al., 2005; Begum &amp; Deka, 2017; Benvenuti et al., 2016; Brito et al., 2014; Buchweitz et al., 2013; Cevallos-Casals &amp; Cisneros-Zevallos, 2004; Chatham et al., 2020; Chen et al., 2018; Cheng et al., 2017; Chung et al., 2015, 2016, 2017; Cisse et al., 2009; L. P. Da Silva et al., 2019; de Moura et al., 2018; de Moura, Berling, et al., 2019; de Moura, Schettini, et al., 2019; De Souza et al., 2015; Duangkhamchan &amp; Siriamornpun, 2015; Duangmal et al., 2008, 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Espín et al., 2000; Estupiñan et al., 2011; Fenger et al., 2021; Fernández-López et al., 2013; Fredes et al., 2018; Fu et al., 2018; G. A. Garzón et al., 2009; G. A. Garzón &amp; Wrolstad, 2009; Q. Ge &amp; Ma, 2013a; X. Ge et al., 2009; Gérard et al., 2019; Ghada et al., 2020; Gironés-Vilaplana et al., 2012, 2014; B. He et al., 2017; Y. He et al., 2018; Hellström et al., 2013; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Iorizzo et al., 2020; Islam, 2016; Jafari et al., 2017; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Journal et al., 2014; Junqueira-</p>

	<p>Gonçalves et al., 2015; Kara &amp; Erceğlebi, 2013; Kim et al., 2011; Kuck &amp; Noreña, 2016; Lao &amp; Giusti, 2017; Laokuldilok &amp; Kanha, 2015, 2017; J. H. Lee et al., 2011; J. Lee &amp; Wrolstad, 2004; J. Li et al., 2013; R. Li et al., 2011; Longo et al., 2007; Longo &amp; Vasapollo, 2005, 2006; Loypimai et al., 2015, 2016; Luna-Vital et al., 2017, 2018; Mahdavee Khazaei et al., 2014; Mane et al., 2015; Mapari et al., 2010; Martins et al., 2016; Martynenko &amp; Chen, 2016; Mehmood et al., 2019; Mishra et al., 2012; Mojica et al., 2017; Nayak &amp; Rastogi, 2010; Nicoué et al., 2007; Nontasan et al., 2012; Obón et al., 2009; Osorio et al., 2010; Özgür &amp; Çimen, 2018; Padma &amp; Dhara, 2011; Peng et al., 2019; Pereira Souza et al., 2017; Peron et al., 2017; Pinela et al., 2019; Pires et al., 2018; Piyapanrungrueang et al., 2016; Quiñones &amp; Coy-Barrera, 2015; Rabelo et al., 2018; Ramirez et al., 2015; Robert et al., 2010; Ruiz et al., 2010, 2013; Sagdic et al., 2013; Salacheep et al., 2020; Santiago et al., 2016; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Sinela et al., 2017; Siti Azima et al., 2014, 2017; Song et al., 2013; Sui et al., 2014, 2016; Swer et al., 2019; Taha et al., 2011; Tong et al., 2020; Tonon et al., 2010; Truong et al., 2012; Turcz et al., 2020; Wallace &amp; Giusti, 2008; Wang et al., 2010; Weber et al., 2017; D. P. Xu et al., 2017; H. Xu et al., 2015; Yamashita et al., 2017; Yang &amp; Zhai, 2010; Yawadio et al., 2007; Yu &amp; Lv, 2019; Zozio et al., 2011)</p>
<p><b>19</b></p>	<p>(Abou-Arab et al., 2011; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Brito et al., 2014; Buchweitz et al., 2013; Cevallos-Casals &amp; Cisneros-Zevallos, 2004; Chatham et al., 2020; Chen et al., 2018; Chung et al., 2016, 2017,</p>



	<p>2015; Cisse et al., 2009; de Moura et al., 2018; de Moura, Berling, et al., 2019; de Moura, Schettini, et al., 2019; Duangkhamchan &amp; Siriamornpun, 2015; Duangmal et al., 2008, 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Fenger et al., 2021; Fernández-López et al., 2013; Gérard et al., 2019; B. He et al., 2017; Idham et al., 2012; Lao &amp; Giusti, 2017; Laokuldilok &amp; Kanha, 2015, 2017; J. Lee &amp; Wrolstad, 2004; J. Li et al., 2013; Loypimai et al., 2015, 2016; Luna-Vital et al., 2017, 2018; Martynenko &amp; Chen, 2016; Nontasan et al., 2012; Pinela et al., 2019; Piyapanrungrueang et al., 2016; Quiñones &amp; Coy-Barrera, 2015; Sinela et al., 2017; Song et al., 2013; Sui et al., 2014, 2016; Truong et al., 2012; Wang et al., 2010; Yang &amp; Zhai, 2010; Yawadio et al., 2007; Zozio et al., 2011)</p>
<p>26</p>	<p>(Ab Rashid et al., 2021; Abou-Arab et al., 2011; Adjé et al., 2010; Aguilera et al., 2016; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpoor, et al., 2016; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Albuquerque et al., 2020; Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Bao et al., 2005; Bayram et al., 2015; Begum &amp; Deka, 2017; Benvenuti et al., 2016; Chen et al., 2018; L. P. Da Silva et al., 2019; De Souza et al., 2015; Duangkhamchan &amp; Siriamornpun, 2015; Duangmal et al., 2008, 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Espín et al., 2000; Estupiñan et al., 2011; G. A. Garzón et al., 2009; Q. Ge &amp; Ma, 2013a; X. Ge et al., 2009; Ghada et al., 2020; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Islam, 2016; Jafari et al., 2016; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Junqueira-Gonçalves et al., 2015; Kim et al., 2011;</p>

	<p>Kuck &amp; Noreña, 2016; Lao &amp; Giusti, 2017; Laokuldilok &amp; Kanha, 2015, 2017; J. H. Lee et al., 2011; J. Lee &amp; Wrolstad, 2004; J. Li et al., 2013; R. Li et al., 2011; Longo et al., 2007; Longo &amp; Vasapollo, 2005, 2006; Loypimai et al., 2015, 2016; Luna-Vital et al., 2017, 2018; Mane et al., 2015; Martynenko &amp; Chen, 2016; Mehmood et al., 2019; Mishra et al., 2012; Nayak &amp; Rastogi, 2010; Nicoué et al., 2007; Nontasan et al., 2012; Osorio et al., 2010; Özgür &amp; Çimen, 2018; Padma &amp; Dhara, 2011; Peng et al., 2019; Pereira Souza et al., 2017; Peron et al., 2017; Pinela et al., 2019; Pires et al., 2018; Quiñones &amp; Coy-Barrera, 2015; Rabelo et al., 2018; Ramirez et al., 2015; Robert et al., 2010; Ruiz et al., 2010, 2013; Sagdic et al., 2013; Salacheep et al., 2020; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Sinela et al., 2017; Siti Azima et al., 2014; Taha et al., 2011; Tong et al., 2020; Truong et al., 2012; Wallace &amp; Giusti, 2008; Wang et al., 2010; D. P. Xu et al., 2017; Yamashita et al., 2017; Yang &amp; Zhai, 2010; Yawadio et al., 2007; Yu &amp; Lv, 2019)</p>
<p><b>32 - 34</b></p>	<p>(Ab Rashid et al., 2021; Abou-Arab et al., 2011; Aguilera et al., 2016; Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Bao et al., 2005; Bayram et al., 2015; Benvenuti et al., 2016; De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Espín et al., 2000; Estupiñan et al., 2011; Q. Ge &amp; Ma, 2013b; Gérard et al., 2019; Ghada et al., 2020; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Islam, 2016; Jafari et al., 2016; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kim et al., 2011; Kuck &amp; Noreña, 2016; Lao &amp; Giusti, 2017;</p>

	<p>Laokuldilok &amp; Kanha, 2015, 2017; J. Lee &amp; Wrolstad, 2004; J. Li et al., 2013; R. Li et al., 2011; Longo et al., 2007; Longo &amp; Vasapollo, 2005, 2006; Loypimai et al., 2016; Martynenko &amp; Chen, 2016; Nicoué et al., 2007; Osorio et al., 2010; Padma &amp; Dhara, 2011; Peng et al., 2019; Peron et al., 2017; Pires et al., 2018; Rabelo et al., 2018; Robert et al., 2010; Sagdic et al., 2013; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Sinela et al., 2017; Taha et al., 2011; Wallace &amp; Giusti, 2008; Wang et al., 2010; Yamashita et al., 2017; Yawadio et al., 2007)</p>
35	<p>(Ab Rashid et al., 2021; Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Bao et al., 2005; Bayram et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Espín et al., 2000; Ghada et al., 2020; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Kim et al., 2011; Kuck &amp; Noreña, 2016; Lao &amp; Giusti, 2017; J. Li et al., 2013; Longo et al., 2007; Longo &amp; Vasapollo, 2005, 2006; Loypimai et al., 2016; Martynenko &amp; Chen, 2016; Padma &amp; Dhara, 2011; Rabelo et al., 2018; Sagdic et al., 2013; Shikov et al., 2008; Wallace &amp; Giusti, 2008; Wang et al., 2010; Yawadio et al., 2007).</p>
37	<p>(Abou-Arab et al., 2011; Aguilera et al., 2016; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Bao et al., 2005; Bonechi et al., 2019; De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Ersus &amp; Yurdagel, 2007; Espín et al., 2000; Gandía-Herrero et al., 2013; Q. Ge &amp; Ma, 2013<sup>a</sup>; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Jafari et al., 2016; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kim et al., 2011; Kuck &amp; Noreña, 2016; Laokuldilok &amp; Kanha, 2015,</p>

	2017; J. Lee & Wrolstad, 2004; Longo et al., 2007; Longo & Vasapollo, 2005; Loypimai et al., 2016; Nicoué et al., 2007; Osorio et al., 2010; Padma & Dhara, 2011; Peng et al., 2019; Petrova et al., 2016; Pinela et al., 2019; Pires et al., 2018; Sagdic et al., 2013; Shikov et al., 2008; Sinela et al., 2017; Siti Azima et al., 2017)
<b>38</b>	(Abou-Arab et al., 2011; Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Arici et al., 2016; Aryanti et al., 2019; Assous et al., 2014; Bao et al., 2005; Bayram et al., 2015; Benvenuti et al., 2016; De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Espín et al., 2000; Q. Ge & Ma, 2013 <sup>a</sup> ; Jafari et al., 2016; Kim et al., 2011; Kuck & Noreña, 2016; Laokuldilok & Kanha, 2015, 2017; J. Lee & Wrolstad, 2004; J. Li et al., 2013; R. Li et al., 2011; Longo et al., 2007; Longo & Vasapollo, 2005, 2006; Loypimai et al., 2016; Peng et al., 2019; Peron et al., 2017; Pinela et al., 2019; Pires et al., 2018; Sagdic et al., 2013; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Siti Azima et al., 2017; Wang et al., 2010; Yamashita et al., 2017)
<b>39</b>	(Alexandra Pazmio-Durán et al., 2001; Assous et al., 2014; Bayram et al., 2015; Benvenuti et al., 2016; Espín et al., 2000; Q. Ge & Ma, 2013 <sup>a</sup> ; Laokuldilok & Kanha, 2015, 2017; R. Li et al., 2011; Longo et al., 2007; Longo & Vasapollo, 2005; Peng et al., 2019; Sagdic et al., 2013; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Sinela et al., 2017; Siti Azima et al., 2017; Wang et al., 2010; Yamashita et al., 2017)
<b>40 y 41</b>	(Adjé et al., 2010; Albuquerque et al., 2020; Aryanti et al., 2019; Begum & Deka, 2017; Chen et al., 2018; L. P. Da Silva et al., 2019; Islam, 2016;

	Özgür & Çimen, 2018; Pereira Souza et al., 2017; Pinela et al., 2019; Quiñones & Coy-Barrera, 2015; Rabelo et al., 2018; Ramirez et al., 2015; Ruiz et al., 2010; Salacheep et al., 2020; Tong et al., 2020; Yu & Lv, 2019)
<b>42</b>	(Ab Rashid et al., 2021; Aguilera et al., 2016; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Assadpour & Jafari, 2019; Bao et al., 2005; Begum & Deka, 2017; Chatham et al., 2020; Cheng et al., 2017; Chung et al., 2015; De Souza et al., 2015; Duangkhamchan & Siriamornpun, 2015; Duangmal et al., 2008, 2008; Ersus & Yurdagel, 2007; Estupiñan et al., 2011; Fredes et al., 2018; B. He et al., 2017; Y. He et al., 2018; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Jafari et al., 2016, 2017; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kim et al., 2011; Kuck & Noreña, 2016; Lao & Giusti, 2017; Laokuldilok & Kanha, 2017; Loypimai et al., 2016; Luna-Vital et al., 2018; Nayak & Rastogi, 2010; Nontasan et al., 2012; Obón et al., 2009; Osorio et al., 2010; Peng et al., 2019; Pereira Souza et al., 2017; Pires et al., 2018; Rabelo et al., 2018; Robert et al., 2010; Santiago et al., 2016; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Siti Azima et al., 2014, 2017; Swer et al., 2019; Tan et al., 2018; Tong et al., 2020; Tonon et al., 2010; Wang et al., 2010; Weber et al., 2017; H. Xu et al., 2015; Yamashita et al., 2017; Yu & Lv, 2019)
<b>45</b>	(Aguilera et al., 2016; Aryanti et al., 2019; De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Estupiñan et al., 2011; Fredes et al., 2018; Jafari et al., 2016; Kuck & Noreña, 2016; Laokuldilok & Kanha, 2017, 2015; J.

	H. Lee et al., 2011; Loypimai et al., 2016; Nontasan et al., 2012; Peng et al., 2019; Pereira Souza et al., 2017; Shikov et al., 2008; Siti Azima et al., 2014; Swer et al., 2019; Tong et al., 2020; Wang et al., 2010; Yamashita et al., 2017; Yu & Lv, 2019)
<b>44</b>	(De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Estupiñan et al., 2011; Fredes et al., 2018; Jafari et al., 2016; Kuck & Noreña, 2016; Laokuldilok & Kanha, 2015, 2017; Loypimai et al., 2016; Nontasan et al., 2012; Pereira Souza et al., 2017; Yamashita et al., 2017; Yu & Lv, 2019)
<b>47</b>	(Ab Rashid et al., 2021; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpoor, et al., 2016; Begum & Deka, 2017; De Souza et al., 2015; Fredes et al., 2018; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kuck & Noreña, 2016; Laokuldilok & Kanha, 2017, 2015; Nayak & Rastogi, 2010; Osorio et al., 2010; Robert et al., 2010; Weber et al., 2017; Yu & Lv, 2019)
<b>49</b>	(Ab Rashid et al., 2021; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpoor, et al., 2016; Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpour, et al., 2016; Begum & Deka, 2017; De Souza et al., 2015; Ersus & Yurdagel, 2007; Fredes et al., 2018; Ibrahim Silva et al., 2013; Idham et al., 2012; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kuck & Noreña, 2016; Laokuldilok & Kanha, 2015, 2017; Nayak & Rastogi, 2010; Osorio et al., 2010; Robert et al., 2010; Weber et al., 2017; Yu & Lv, 2019)
<b>54</b>	(Aguilera et al., 2016; Arici et al., 2016; Assous et al., 2014; Bayram et al., 2015; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Fernández-López

	et al., 2013; X. Ge et al., 2009; Guan & Zhong, 2015; Y. He et al., 2018; J. Li et al., 2013; Loypimai et al., 2016; Luna-Vital et al., 2018; Peng et al., 2019; Sagdic et al., 2013; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Song et al., 2013; Sui et al., 2014, 2016; Tan et al., 2018; Wang et al., 2010; H. Xu et al., 2015; Yu & Lv, 2019)
<b>56</b>	(Ab Rashid et al., 2021; Aguilera et al., 2016; Albuquerque et al., 2020; Arici et al., 2016; Assous et al., 2014; Bayram et al., 2015; Begum & Deka, 2017; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Chatham et al., 2020; Chung et al., 2017; de Moura et al., 2018; De Souza et al., 2015; Duangmal et al., 2008; Estupiñan et al., 2011; Fernández-López et al., 2013; Fredes et al., 2018; X. Ge et al., 2009; Guan & Zhong, 2015; B. He et al., 2017; Y. He et al., 2018; Idham et al., 2012; Jafari et al., 2016; Jiménez-Aguilar et al., 2011; Kim et al., 2011; Laokuldilok & Kanha, 2017; J. Li et al., 2013; Loypimai et al., 2016; Luna-Vital et al., 2018; Nontasan et al., 2012; Osorio et al., 2010; Peng et al., 2019; Peron et al., 2017; Robert et al., 2010; Sagdic et al., 2013; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Song et al., 2013; Sui et al., 2014, 2016; Swer et al., 2019; Tan et al., 2018; Tonon et al., 2010; Wallace & Giusti, 2008; Wang et al., 2010; Weber et al., 2017; H. Xu et al., 2015; Yu & Lv, 2019; Zozio et al., 2011)
<b>61</b>	(Aguilera et al., 2016; Assous et al., 2014; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2004; Duangmal et al., 2008; Estupiñan et al., 2011; X. Ge et al., 2009; Guan & Zhong, 2015; Kim et al., 2011; J. Li et al., 2013;

	Loypimai et al., 2016; Peng et al., 2019; Sari et al., 2012; Shikov et al., 2008; Song et al., 2013; Sui et al., 2014; Wang et al., 2010; H. Xu et al., 2015; Zozio et al., 2011)
--	---



### **ANEXO 3 METODOS DE EXTRACCIÓN**

#### **Extracción Fluidos Super críticos (SFE)**

Esta extracción utiliza fluidos súper críticos como solventes de extracción. Estos fluidos tienen una solubilidad similar al líquido y una difusividad similar al gas. Sus propiedades de solvatación cambian drásticamente cerca de sus puntos críticos por cambios de presión y temperatura (Zhang et al., 2018).

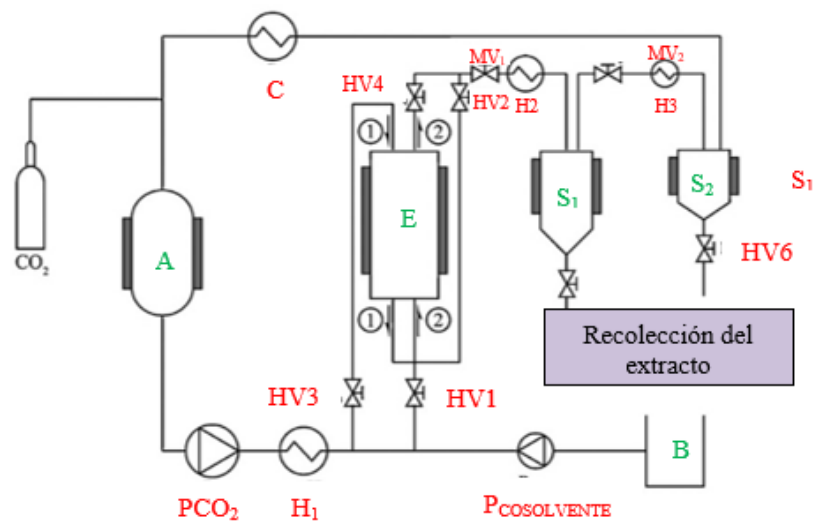
Según (Zhang et al., 2018), toda sustancia terrenal tiene tres estados básicos, sólido, líquido y gaseoso. El estado supercrítico es un estado distinto y solo se puede lograr si se somete a temperatura y presión más allá de su punto crítico.

El punto crítico se considera como la temperatura y la presión características por encima de las cuales no existe fase distintiva entre gas y líquido. En este estado las propiedades gas y/o líquido se desvanecen (Aguilera et al., 2016).

Una de las razones por las que esta tecnología puede extraer con altos rendimientos y en poco tiempo, es porque el fluido súper crítico se conoce que tiene propiedades similares a los gases de difusión, viscosidad y tensión superficial, y densidad y poder de solvatación similares a la de los líquidos (Aguilera et al., 2016).

El S-CO<sub>2</sub> supercrítico se usó ampliamente en SFE debido a su baja temperatura crítica (31 °C), selectividad, inercia, bajo costo, no toxicidad y capacidad para extraer compuestos térmicamente lábiles (Zhang et al., 2018). Temperatura, presión, tiempo y porcentaje del co-solventes son de las condiciones tenidas en cuenta en esta extracción (Junior et al., 2014).

En la **Figura 49** un esquema de un proceso de extracción por fluidos supercríticos para la extracción de antocianinas a partir de *Vaccinium myrtillus* usando CO<sub>2</sub> supercrítico y etanol como co-solvente (Babova et al., 2016).



**Figura 49.** Esquema de un extractor de fluidos. (1) Circulación del fluido supercrítico durante la extracción. (2) Circulación del fluido durante la extracción subcrítica. (A) Tanque de almacenamiento del buffer de CO<sub>2</sub>. (B) tanque de almacenamiento del co-solvente. (E) recipiente de extracción. (S1) Separador gravimétrico. (S2) Separador

ciclónico. (P) Bombas diafragmáticas. (H1-H3) Intercambiadores de calor. (C) Condensador. (HV<sub>1</sub> – HV<sub>6</sub>) válvulas de mano. (MV<sub>1</sub>-MV<sub>2</sub>) válvulas de membrana. Esquema tomado de (Babova et al., 2016).

Algunas de las ventajas y desventajas reportadas para esta tecnología son:

Ventajas (Junior et al., 2014; Liu et al., 2000; Zhang et al., 2018):

- Uso de fluidos súper críticos como solvente.
- Amigable con el medio ambiente.
- Rápido, selectivo, productos libres de solventes.
- Libre de cierta degradación de compuestos lábiles o fácilmente oxidable.
- Los extractos se conocen como generalmente seguros (GRAS).
- Inhibe las enzimas que causan la degradación de antocianinas.
- El fluido tiene un coeficiente de difusión más alto y menor viscosidad y tensión superficial que un solvente líquido. Esto genera una mayor penetración en la matriz de la muestra y una transferencia de masa favorable (Azmir et al., 2013).
- Reducción del tiempo de extracción.
- El poder de solvatación puede ajustarse con presión y temperatura, por tanto, puede tener mayor selectividad.
- La separación del soluto y solvente puede evitarse mediante la despresurización del fluido super crítico.
- Opera a temperatura ambiente.
- Reciclaje y reutilización de fluidos supercríticos es posible.

## **Desventajas**

- Uso obligatorio de un solvente polar (Liu et al., 2000)
- Puede lograrse en algunos casos rendimientos parecidos a la extracción por solvente (Liu et al., 2000).
- Altos costos, se asocia con compuestos de alto valor que requieren cumplimiento de regulaciones (Junior et al., 2014; Liu et al., 2000).

## **Extracción asistida por microondas**

El fundamento de la extracción por microondas es generar calor al interactuar con compuestos polares como agua y algunos solventes orgánicos en la matriz de la planta siguiendo los mecanismos de conducción iónica y rotación de dipolos (Aguilera et al., 2016; Zhang et al., 2018).

El calor es generado porque el medio tiene una resistencia al flujo de iones. Estos iones mantienen su dirección a lo largo de señales que cambian con frecuencia. Este cambio frecuente de direcciones da como resultado una colisión entre moléculas y en consecuencia se genera calor (Aguilera et al., 2016).

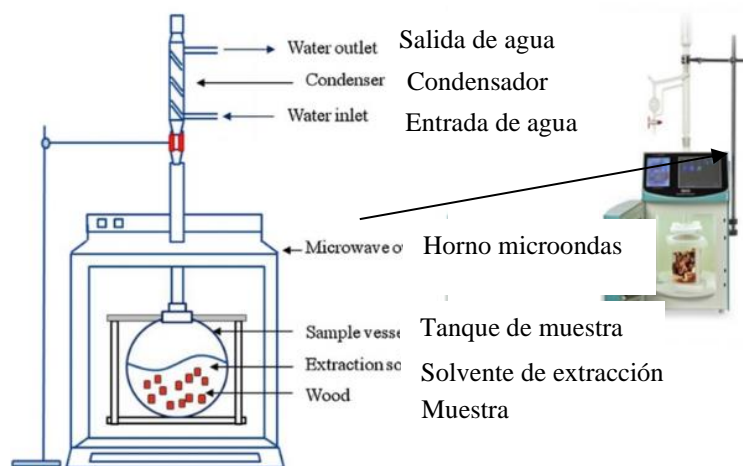
Las microondas son campos electromagnéticos en la frecuencia entre 300 MHz a 300 GHz (Aguilera et al., 2016). La energía microondas al convertirse en calor de manera instantánea y eficiente calienta los solventes y los materiales vegetales simultáneamente. El agua de las matrices vegetales generará calor desde el interior lo

que aumentará la penetración del solvente y se provocará la ruptura de las células (Piyapanrungrueang et al., 2016).

Según Aguilera et al., (2016) se pueden tener tres pasos en la extracción asistida por microondas, (i) separación de solutos de los sitios activos de la matriz de la muestra bajo mayor temperatura y presión; (ii) difusión del solvente a través de la muestra; (iii) liberación del soluto de la matriz al solvente. La transferencia de calor y masa son en la misma dirección lo que genera un efecto sinérgico mejorando el rendimiento (Zhang et al., 2018).

Piyapanrungrueang et al., (2016) realizaron una investigación en *Zea mays* L. comparando la extracción asistida por microondas, calor óhmico, ultrasonido y calentamiento convencional. De esta revisión la mejor extracción fue la asistida por microondas con una extracción de antocianinas totales de 397.1 mg /100 g de polvo de maíz.

En la **Figura 50** se observa un esquema de equipo usado para extracción por microondas. Esta imagen fue obtenida de una investigación que buscaba obtener polifenoles a partir de *Quercus bark* (Bouras et al., 2015).



**Figura 50.** Esquema extracción asistida por microondas. Tomado de (Bouras et al., 2015)

Algunas ventajas y desventajas de esta tecnología son:

Ventajas (Aguilera et al., 2016; Piyapanrungrueang et al., 2016; S. Silva et al., 2017; Zhang et al., 2018):

- Aumenta rendimiento de extracción.
- Disminuye la degradación térmica
- Calentamiento selectivo del material.
- Tecnología verde porque reduce uso de solventes orgánicos.
- Gradientes térmicos reducidos.
- Tamaño del equipo reducido
- Mayor rendimiento del extracto
- Selectiva para compuestos orgánicos y organometálicos
- Bajos tiempos de extracción.
- Bajos consumo de solvente.
- Reproducible

- Fácil y rápida.

Desventajas:

- Temperatura puede causar degradación de antocianinas (Liu et al., 2000).

### **Extracción enzimática**

La pared celular y la membrana están compuestas por polisacáridos y proteínas las cuales pueden ser alteradas por la acción hidrolítica gracias a la adición de enzimas. Dicha alteración ocasionará la liberación de las moléculas a extraer. Enzimas como celulosa, amilasa y pectinasa son las más usadas comúnmente (Azmir et al., 2013; Zhang et al., 2018).

Al pensar en la ubicación de las antocianinas en la célula, estas se encuentran dentro de las vacuolas, por tanto, el proceso de extracción debe lograr atravesar la pared celular, la membrana, el citoplasma y la membrana vacuolar. Al usar las mezclas de enzimas es posible facilitar el acceso (Liu et al., 2000).

Factores como la composición de enzimas, el tamaño de la partícula, la proporción de sólido a agua y el tiempo de hidrólisis se consideran claves en este proceso de extracción (Azmir et al., 2013).

Algunas ventajas y desventajas de esta tecnología son:

Ventajas

- Facilita el acceso a la vacuola celular (Liu et al., 2000)

## Desventajas

- Las enzimas podrían hidrolizar la parte aglicona de las antocianinas y afectar el rendimiento (Liu et al., 2000)

## **Extracción líquido presurizado**

También conocido como extracción de solvente acelerada (ASE). Esta tecnología permite una extracción rápida con bajo consumo de solventes. Se fundamenta en el uso de alta presión para mantener los solventes líquidos a altas temperaturas. Las altas temperaturas permiten mejorar la solubilidad de los compuestos, humectación de muestras y penetración de la matriz (Liu et al., 2000).

Para poder usar esta técnica sin afectar los rendimientos, debe encontrarse el equilibrio positivo entre la cinética de degradación y la extracción, ya que hay estudios que muestran que la degradación de antocianinas inicia cuando comienza la extracción debido a la temperatura aplicada (Liu et al., 2000).

Algunas de sus ventajas y desventajas son:

### Ventajas

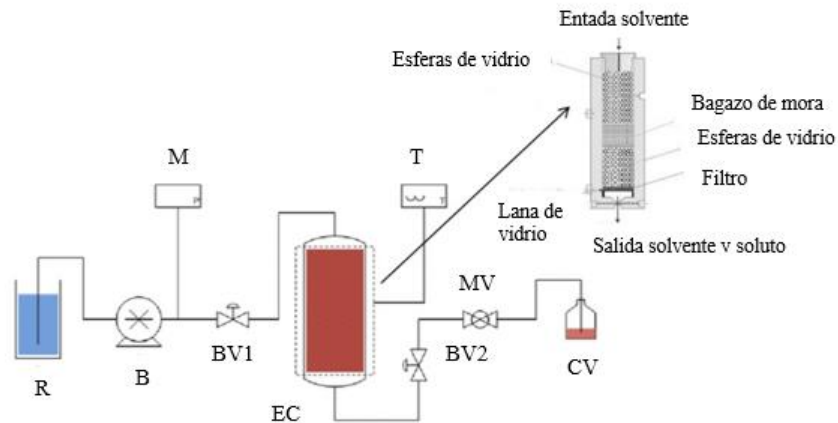
- Bajo consumo de solvente
- Bajo tiempo de extracción (Liu et al., 2000).

### Desventajas:

- Altas temperaturas usadas pueden causar degradación de antocianinas.



En la **Figura 51** se observa un esquema del proceso de extracción por líquidos presurizados. Esta imagen se obtuvo de una investigación que buscaba obtener antocianinas a partir de residuos de *Rubus fruticosus* L (Machado et al., 2015).



**Figura 51.** Esquema del proceso de extracción por líquidos presurizados. Tomado de (Machado et al., 2015). R: depósito de disolvente, B: bomba de disolvente, M: manómetro, BV1 y BV2: Válvulas de bloqueo, EC: celda de extracción con camisa calefactora, MV: válvula micrométrica, T: controlador e indicador de temperatura, CV: recipiente de recogida.

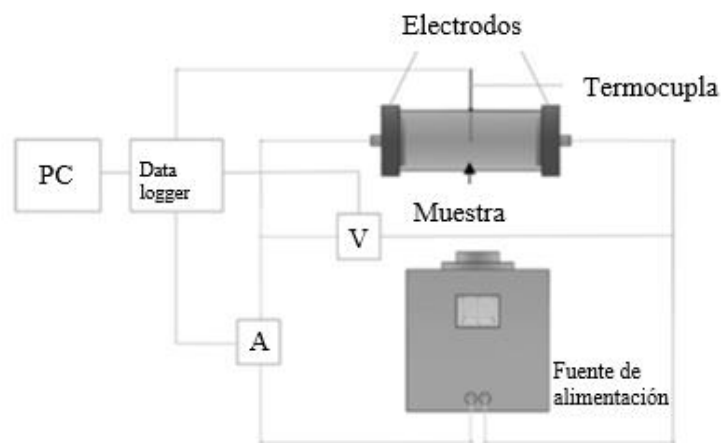
### **Extracción asistida con calor óhmico**

También se conoce como calentamiento electroconductor, utiliza resistencia eléctrica inherente de un alimento dado para convertir la energía eléctrica en energía térmica aumentando la permeabilidad celular (Aguilera et al., 2016; Liu et al., 2000).

Muchos alimentos contienen componentes iónicos tales como sales y ácidos que permiten la conducción de corriente eléctrica. Lo anterior es posible usarlo para generar calor dentro del producto, transformando la energía eléctrica en energía térmica de forma rápida sin necesidad de un medio de calentamiento (Loypimai et al., 2015).

En esta tecnología los factores importantes son la corriente eléctrica, las propiedades eléctricas, el tiempo y la temperatura de extracción (Piyapanrungrueang et al., 2016).

En la **Figura 52** se observa un esquema del equipo de extracción usado en esta tecnología. Este esquema fue obtenido a partir de una investigación que buscaba obtener antocianinas de *Oryza sativa* (Loypimai et al., 2015).

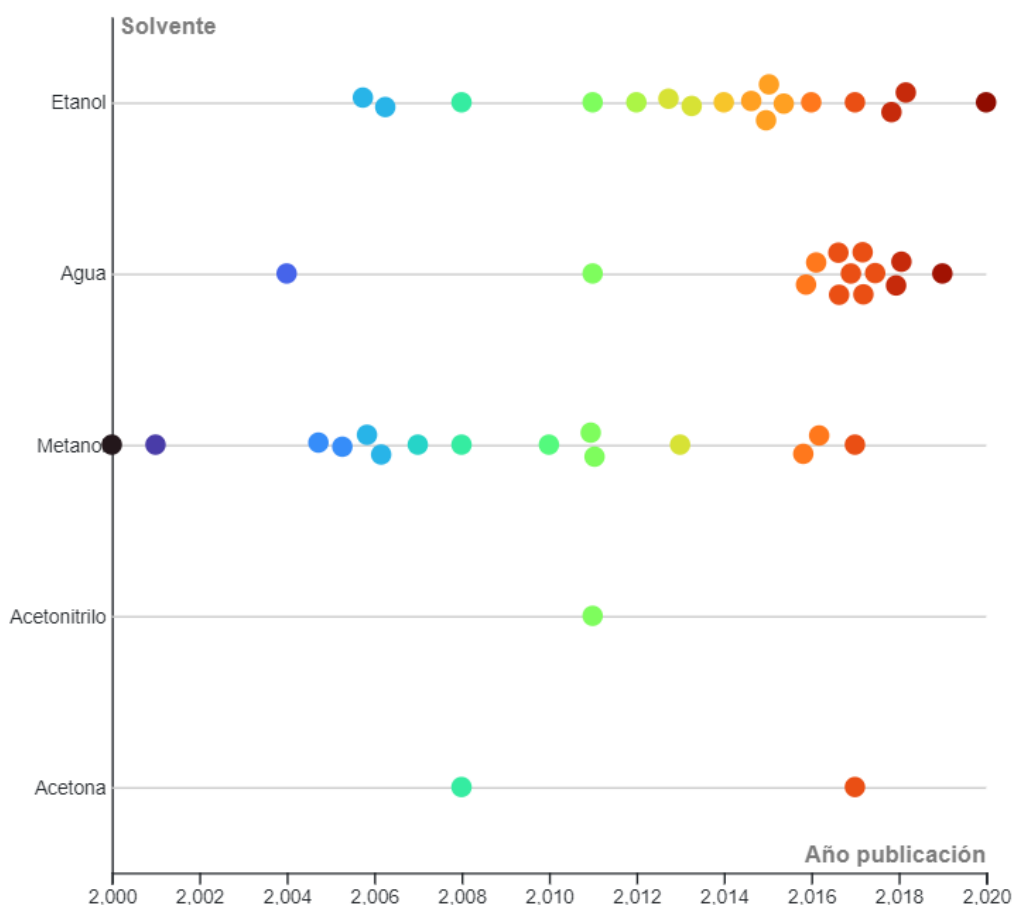


**Figura 52.** Equipo de extracción para el proceso asistido por calor óhmico. Imagen tomada de (Loypimai et al., 2015).

#### ANEXO 4

### RELACIÓN ENTRE EL AÑO DE PUBLICACIÓN CON EL SOLVENTE USADO

En la **Figura 53** puede verse el comportamiento de los solventes usados a través del tiempo, desde el año 2000 hasta el 2020. Es posible ver como el uso de metanol en la última década no fue tan presente como el agua o el etanol. Del agua se tiene una notable densidad desde el año 2016 y del etanol se evidenció el aumento desde el año 2010.



**Figura 33.** Relación solvente vs el año de publicación. Gráfico parcelas de

beeswarm n=48

## ANEXO 5

**Tabla 14.** Ventajas y desventajas de la liofilización y el secado por aspersion. (Akhavan Mahdavi, Jafari, Assadpoor, et al., 2016; Cavalcanti et al., 2011; Cortez et al., 2017; Idham et al., 2012; Jafari et al., 2016; Mansour et al., 2020; Yousuf et al., 2016; Yu & Lv, 2019)

	<b>Liofilización</b>	<b>Secado por aspersion</b>
<b>Ventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bajas temperaturas de proceso.</li> <li>• Productos fácilmente reconstituibles.</li> <li>• No afecta propiedades sensoriales.</li> <li>• Mantiene la biofuncionalidad del producto.</li> <li>• La solubilidad del producto final puede ser mejor.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proceso continuo.</li> <li>• Bajo costo.</li> <li>• Produce partículas secas de buena calidad.</li> <li>• Maquinaria fácilmente disponible.</li> <li>• Capacidad de producir rápidamente polvo seco.</li> <li>• La capacidad de controlar la distribución del tamaño de partículas.</li> </ul>
<b>Desventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Altos costos de operación.</li> <li>• Tiempos largos de deshidratación.</li> <li>• Las partículas generalmente tienen alta porosidad.</li> <li>• El equipo debe ser manejado por personas entrenadas.</li> <li>• Alto uso de energía, largo tiempo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Altas temperaturas para evaporar la fase líquida.</li> <li>• Morfología diversa.</li> <li>• Puede producirse desperdicio de material con la pérdida de partículas finas en el aire de escape.</li> </ul>

## ANEXO 6

### COPIGMENTACIÓN Y PRUEBAS DE ESTABILIDAD

Es una tecnología de asociación que busca mejorar la estabilidad de las antocianinas. Puede ser copigmentación intramolecular con grupos aromáticos de ácidos hidroxicinámicos e intermolecular con sustancias no coloreadas como flavonoles y glucósidos de flavona (Cavalcanti et al., 2011).

Es una tecnología de asociación que busca mejorar la estabilidad de las antocianinas. Puede ser copigmentación intramolecular con grupos aromáticos de ácidos hidroxicinámicos e intermolecular con sustancias no coloreadas como flavonoles y glucósidos de flavona (Cavalcanti et al., 2011).

Uno de los cuestionamientos para el uso de la copigmentación está asociado a que hay procesos que se pueden dar espontáneamente, sin embargo, estos pueden tardar bastante tiempo y la eficiencia no es tan buena.

Para solventar esto, He et al., (2018) probaron con altas presiones hidrostáticas para acelerar la copigmentación de antocianinas con ácidos orgánicos (es una tecnología de procesamiento que tiene una gran ventaja y es que no es térmico pero que si tiene un efecto sobre la disposición espacial de las moléculas y la reacción catalítica en un periodo corto).

He et al., (2018) realizaron una evaluación de la estabilización de antocianinas con copigmentación de ácidos orgánicos pero asistida con altas presiones hidrostáticas y concluyeron que si es posible usar altas presiones hidrostáticas para acelerar el proceso de copigmentación y además vieron como esta mejoró la estabilidad de las antocianinas a altas temperaturas y presencia de luz.

Las investigaciones que se van a revisar están consolidadas en la **Tabla 15** y las moléculas adicionadas para ver el efecto de la copigmentación fueron:

- Ensayo 1: adición de goma arábica para mejorar estabilidad a la temperatura.
- Ensayo 2: adición de polifenoles y una saponina para mejorar estabilidad a la temperatura.
- Ensayo 3: adición de  $\beta$ CD ( $\beta$  – ciclodextrina) para mejorar estabilidad a condiciones de luz y oscuridad y también temperatura.
- Ensayo 4: adición de ácido ferúlico, rutinosa y maltodextrina para mejorar estabilidad a la temperatura.
- Ensayo 5: adición de aminoácidos, fenilalanina, tirosina, lisina y triptófano para mejorar estabilidad a la temperatura.

#### **7.1.1. Adición de goma arábica**

La goma arábica ha sido una de las moléculas estudiadas como estrategia de estabilización de antocianinas (Luna-Vital et al., 2018). En este caso la

**Tabla 15.** Estudios de estabilidad por medio de la copigmentación.

Número de ensayo	Fuente de antocianinas	Matriz de evaluación	Variables para evaluar	Condiciones de ensayo	pH	Luz	T °C	t1/2	Unidad de medida de la vida media	Referencia
1	Colorante comercial	Solución acuosa	Adición de goma arábica Temperatura	Sin goma arábica	5	Nd	80	221.47±	Min	(Guan & Zhong, 2015)
				34.80						
				445.13±						
				61.26						
				16.58±						
				2.92						
				30.14±						
				4.70						
				133						
				2.62						
2	<i>Daucus carota L.</i>	Modelo de bebida	Adición de compuestos a un modelo de bebida en presencia de ácido ascórbico	Sin goma arábica	3	Nd	40	3.82	Días	(Chung et al., 2016)
				Con goma arábica						
				Sin goma arábica						
				Con goma arábica						
				Solo antocianinas						
Antocianinas + ácido ascórbico	6.13									
Antocianinas + ácido ascórbico + 0.2% Q – Naturale 200	2.89									
Antocianinas + ácido ascórbico+ 0.2 Vainillina	6.73									
Antocianinas + ácido ascórbico+ epigallocatequina gallate	4.45									
Antocianinas + ácido ascórbico + 0.2 % extracto de té verde										
Antocianinas + ácido ascórbico+ 0.20 % protocathechualdehido										

3	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Sistema de bebida con adición de antocianinas en polvo o en extracto acuoso	Efecto de $\beta$ CD en el polvo y extracto acuoso Efecto de presencia de luz Efecto de temperatura de forma posterior en oscuridad	Polvo de antocianinas Idaho	Luz		0.074	(Aguilera et al., 2016)	
				Polvo de antocianinas Idaho	Oscuras		0.074		
				Polvo de antocianinas Idaho + $\beta$ CD	Luz		13.05		
				Polvo de antocianinas Idaho + $\beta$ CD	Oscuras		13.49		
				Polvo de antocianinas Otomi	Nd	Luz	32		8.17
				Polvo de antocianinas Otomi		Oscuras			9.83
				Polvo de antocianinas Otomi + $\beta$ CD		Luz			13.92
				Polvo de antocianinas Otomi + $\beta$ CD		Oscuras			15.23
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi		Luz			6.02
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi		Oscuras			7.53
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi + Bcd		Luz			9.34
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi + $\beta$ CD		Oscuras			9.40
				Polvo de antocianinas Idaho			4		31.80
				Polvo de antocianinas Idaho			25		3.25
				Polvo de antocianinas Idaho + $\beta$ CD			4		77.80
				Polvo de antocianinas Idaho + $\beta$ CD	Nd	Oscuridad	25		6.72
				Polvo de antocianinas Otomi			4		36.10
Polvo de antocianinas Otomi			25	2.86					
Polvo de antocianinas Otomi + $\beta$ CD			4	92.42					

**Días**

**Semanas**



				Polvo de antocianinas Otomi + $\beta$ CD			25	5.26		
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi			4	33.65		
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi			25	3.17		
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi + $\beta$ CD			4	51.73		
				Extracto acuoso de antocianinas Otomi + $\beta$ CD			25	4.26		
				Antocianinas puras				224 $\pm$ 2.3		
				Antocianinas + ácido ferúlico			4	257 $\pm$ 2.6		
4	<i>Rubus fruticosus agg.</i>	Polvo en cajas de Petri	Adición de ácido ferúlico, rutinosa y maltodextrina. Temperatura	Antocianinas + rutinosa	Nd	Nd		330 $\pm$ 7.9	Días	(Weber et al., 2017)
				Antocianinas puras				151 $\pm$ 1.5		
				Antocianinas + ácido ferúlico			35	158 $\pm$ 1.6		
				Antocianinas + rutinosa				193 $\pm$ 2.6		
				Solo antocianinas				315		
				Antocianinas +ácido ascórbico				2.31		
				Antocianinas +ácido ascórbico+0.1% L- fenilalanina				3.57		
5	<i>Daucus carota L.</i>	Modelo de bebida	Adición de aminoácidos	Antocianinas +ácido ascórbico+0.1% L-tirosina	3	Nd	40	3.70	Días	(Chung et al., 2017)
				Antocianinas +ácido ascórbico+0.1% L- triptófano				6.22		
				Antocianinas +ácido ascórbico+0.1% $\epsilon$ -poli- L- lisina				3.46		

goma arábica se adiciona a la solución, pero no pasa por un proceso como liofilización o secado por aspersión (Guan & Zhong, 2015).

La solución de antocianinas junto con goma arábica fue sometida a temperaturas de 80 °C y 126 °C a un pH 5. Ellos definieron un control sin goma arábica contra el que realizaron las comparaciones. Encontraron que la constante de degradación  $k$ , decrece significativamente con la adición de goma arábica a ambas temperaturas y por tanto su  $t_{1/2}$  aumenta como se puede ver en el **Tabla 15 ensayo 1**.

Según Guan & Zhong, (2015) la mejora resulta de la formación de complejos de atracciones hidrofóbicas. Las moléculas de goma arábica se involucraron en la formación de complejos y la inclusión de las antocianinas en el centro del complejo resulta mejorando la estabilidad. Con este estudio los autores sugirieron expandir el uso de goma arábica para productos con un pH alrededor de 5.

### **7.1.2. Adición de polifenoles y una saponina**

En la **Tabla 15 ensayo2**, los autores evaluaron el efecto de la adición de polifenoles y una saponina en la estabilidad de las antocianinas en presencia de ácido ascórbico. En primer lugar, en la **Tabla 15** se observa el efecto que tienen la adición de ácido ascórbico (conocido por ser promotor de inestabilidad en las antocianinas) en la muestra en cuanto al valor de vida media. Esta baja de 133 días a 2.62 días.

De los compuestos evaluados el extracto de té verde mejora la vida media de las antocianinas de *Daucus carota L* sobre los otros compuestos adicionados. La

epigallocatequina gallate también tuvo un buen efecto en el aumento de la vida útil. Se concluye que la estabilización se atribuye a interacciones hidrofóbicas entre las antocianinas con los compuestos añadidos. Con este estudio se evidencia que estos compuestos puede ser una buena opción para estabilizar el color de las antocianinas en modelos de bebidas.

### 7.1.3. Adición de $\beta$ – ciclodextrina

En la **Tabla 15 ensayo 3** se aplicaron antocianinas en un modelo de una bebida deportiva, este modelo fue elegido por los investigadores por su pH bajo y su capacidad buffer ya que la estabilidad de las antocianinas podría ser mejor.

En esta publicación se ensayaron dos fuentes de antocianinas de *Phaseolus vulgaris L* de Idaho y Otomi de diferentes zonas geográficas (Idaho, cultivo de Estados Unidos y Otomi, cultivo de México), reportadas como fuente de colorantes naturales. Primero hicieron un ensayo para probar el efecto de la luz y la oscuridad y seguido a esto ensayaron almacenamiento en temperaturas de 4 y 25 °C (Aguilera et al., 2016).

Para estos ensayos buscaron evaluar el efecto de  $\beta$ CD ( $\beta$  – ciclodextrina) sobre la estabilidad de las antocianinas a través de reacciones de copigmentación. Este compuesto es formado a partir de una modificación del almidón, permite la formación de complejos de inclusión con una amplia variedad de compuestos organicos que entran parcial o totalmente en sus cavidades hidrófobas. Al mismo tiempo expulsa las pocas moléculas de agua de alta energía del interior de su matriz. En otros estudios se

ha demostrado que este compuesto mejora la estabilidad y previene la pérdida de antocianinas durante el almacenamiento (Aguilera et al., 2016).

En cuanto al primer ensayo, como se esperaba la degradación de los compuestos fue mas baja en condiciones de oscuridad y en presencia de  $\beta$ CD en todas las bebidas (**Tabla 15 ensayo 3**). La menor reducción se encontró en los polvos y por último en el la bebida con adición de extracto acuoso. La mayor vida media fue encontrada en la prueba con polvo de antocianinas Otomi +  $\beta$ CD 15.23 días (**Tabla 15 ensayo 3**).

El segundo ensayo fue llevado en condiciones de oscuridad para evaluar las temperaturas de 4°C y 25 °C. En este ensayo se encontró como  $\beta$ CD mejoro drásticamente la vida media en temperaturas de almacenamiento de 4° C (**Tabla 15 ensayo 3**). Los autores concluyeron que resulta muy prometedor el uso de antocianinas de cascara de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) como fuente de colorantes en bebidas bajo este mecanismo estudiado (Aguilera et al., 2016).

#### **7.1.4. Adición de rutinosa y ácido ferúlico**

Weber et al., (2017) reportaron que una de las formas para estabilizar antocianinas y evitar la hidratación del catión flavilio al formar con otros compuestos es formar complejos no covalentes con las antocianinas por apilamiento de electrones. La rutina y los ácidos cinámicos como el ácido ferúlico se consideran muy buenos compuestos parar formar complejos de copigmentación.

Según los resultados en la **Tabla 15 ensayo 4**, se confirma que los dos compuestos adicionados mejoran la estabilidad de las antocianinas aumentando su vida media. Este efecto se observa en mayor proporción para la rutinosa. Este resultado se atribuye a las propiedades antioxidantes de los dos compuestos adicionados y a la prevención de la hidratación de las antocianinas.

#### **7.1.5. Adición de aminoácidos**

En este estudio se propone la adición de 3 aminoácidos (fenilalanina, tirosina y triptófano) y un péptido ( $\epsilon$ -poli-L- lisina) para mejorar la estabilidad de las antocianinas y su color en un sistema de bebida. (Chung et al., 2017) reportaron que eligieron aminoácidos porque en un estudio anterior encontraron que los grupos fenólicos de la proteínas de suero pueden interactuar con las antocianinas e inhibir su degradación. Otros estudios también han demostrado que los compuestos fenólicos pueden mejorar la estabilidad por efectos de la copigmentación.

Otro motivo esta asociado a que el uso de aminoácidos tiene beneficios para la salud por lo que puede ser un valor nutricional agregado su adición (Chung et al., 2017).

En cuanto al polipeptido se seleccionó porque este tiene una carga muy positiva que puede usarse en las bebidas como agente antimicrobiano. Además de que sus propiedades catiónicas puede proporcionar conocimiento sobre las interacciones electrostáticas en la capacidad de los péptidos para alterar la estabilidad química de las antocianinas (Chung et al., 2017).

En este ensayo se observó en la **Tabla 15 ensayo 5** el efecto de la adición de ácido ascórbico al comparar las antocianinas puras vs aquellas que se les adicionó este compuesto. La disminución en la vida media es de 315 a 2.31 días. En cuanto al poder estabilizador de los aminoácidos sobre las antocianinas, se observa que la adición con triptófano fue la más efectiva. También se observa un aumento leve en la vida media como la adición del péptido (Chung et al., 2017).

Se concluye por los autores que la adición de aminoácidos y péptidos si aumentan la estabilidad del color de las antocianinas en el modelo de bebida evaluado. En cuanto a las interacciones dadas entre el péptido y las antocianinas, se logra ver que son a través de puentes de hidrógeno y algunas interacciones hidrofóbicas (Chung et al., 2017).

## ANEXO 7

### EFFECTO CONDICIONES DE SECADO POR ASPERSIÓN

Dos estudios realizaron evaluación de si las condiciones de operación del proceso de secado por aspersión podría afectar los parámetros de color (**Tabla 16**). Laokuldilok & Kanha, (2017) evaluaron la temperatura del aire de entrada y el valor DE. Ellos reportan de acuerdo con los resultados que el incremento de la temperatura del aire de entrada y el cambio del valor DE cambian el color de la microcapsula y decrece el valor  $L^*$  y  $C$  e incrementa el valor  $H^\circ$  el cual mantiene un color magenta (**Tabla 16 ensayo 1**).

En la **Tabla 16 ensayo 2** también se evaluó el efecto de la temperatura del aire de entrada y el flujo. Este fue probado con un solo material de pared. El color en estas muestras fue evaluado en muestras líquidas, por tanto el polvo se diluyó antes de los análisis. Los autores mencionan que el parámetro  $a^*$  fue alto en las muestras el cual lo atribuyen al contenido de antocianinas. El  $H^\circ$  fue menor a  $10^\circ$  en todas las muestras y por tanto se perciben de color rojo. Este ángulo es el atributo de color que es percibido.

Los autores en este ensayo obtuvieron el  $\Delta E$  a partir del control previo al proceso de secado por aspersión **Tabla 16 ensayo 2**. Se evidencia que los  $\Delta E$  del flujo de alimentación de 8.5 mL/min tanto a 140 °C como a 160 °C son los mas altos entre todas las muestras evaluadas. Por su parte los más bajos son a 140 °C pero a mayor flujo, 9.1 y 9.6 mL/min.

**Tabla 16.** Efecto sobre los parámetros de color de las condiciones de secado por aspersión. Ensayo (CIELCh), ensayo 2 (HnterLab). No se tiene dato (nd) y no aplica (na), MD (Maltodextrina)

Ensayo	Matriz de extracción	Tipo de muestra	Condiciones de la operación de secado por aspersión evaluadas			Color	Parámetros de color					ΔE	Referencia	
			Temperatura aire de entrada (°C)	Temperatura aire de salida (°C)	Flujo de alimentación (mL/min)		L*	a*	b*	C*	H*			
1	Oryza sativa L	MD DE 10	140				43.77			31.73±0.03	13.73±0.05		(Laokuldilok & Kanha, 2017)	
		MD DE20	140				43.08			31.30±0.02	13.99±0.03			
		MD DE 30	140				41.74			28.78±0.05	14.75±0.01			
		MD comercial DE 10	140				44.83			34.90±0.18	12.90±0.07			
		MD DE 10	160				43.63			29.91±0.00	13.86±0.03			
		MD DE20	160	nd	nd		42.88	Nd	Nd	29.01±0.01	14.09±0.03	Na		
		MD DE 30	160				41.05			26.06±0.08	15.00±0.01			
		MD comercial DE 10	160				42.88			34.13±0.31	12.72±0.11			
		MD DE 10	180				42.65			26.15±0.02	14.10±0.04			
		MD DE20	180				41.62			22.50±0.06	14.44±0.04			
2	Vaccinum ashei var. Rabbiteye	MD DE 30	180				40.24			21.97±0.01	15.51±0.05		(Jiménez-Aguilar et al., 2011)	
		MD comercial DE 10	180				44.77			31.55±0.06	12.40±0.06			
			140		81	8.5		38.27±0.60	32.88±0.81	3.06±0.13	33.02±0.82	5.31±0.10		5.66±0.13
			140		80	9.1		35.80±0.75	33.33±0.21	3.40±0.03	33.50±0.21	5.33±0.08		3.49±0.26
		Goma mesquita	140		80	9.6		35.87±0.90	33.46±0.12	4.15±0.06	33.71±0.12	7.07±0.12		3.25±0.29
			160		95	8.5		39.48±0.50	34.46±0.05	3.67±0.09	34.55±0.05	6.09±0.14		6.04±0.23
			160		95	9.1		37.83±0.03	33.24±0.25	4.88±0.05	33.60±0.05	8.35±0.11		4.87±0.34
			160		92	9.6		36.21±0.56	33.53±0.28	5.89±0.02	34.04±0.08	9.96±0.34		3.62±0.31
	Control previo a SD	na	na	na		33.70±0.61	35.82±0.07	4.66±0.3	36.12±0.09	7.71±0.60	Na			



Con este ensayo se logró evidenciar el efecto que el flujo de alimentación y la temperatura del aire de entrada puede tener sobre el color. Adicionalmente, la muestra con un  $\Delta E$  de 3.49 (el segundo menor de las pruebas realizadas) fue también la que tuvo el mejor comportamiento a nivel de baja degradación de antocianinas y compuestos fenólicos totales y la menor pérdidas de actividad antioxidante. También fue una de las muestras con el porcentaje de humedad más bajo (Jiménez-Aguilar et al., 2011).

## ANEXO 8








### EFEECTO DEL VALOR DE

En numerales anteriores se referenció la influencia que tiene el valor DE en algunos variables evaluadas después de la encapsulación y ahora también se revisará el efecto sobre los parámetros de color. En el estudio realizado por Yamashita et al., (2017) (**Tabla 18 ensayo 1**) evaluando maltodextrinas DE 10 y DE 20 se observó que las microcápsulas con MD DE 10 eran más oscuras y tenían un rojo más intenso (mayor valor  $L^*$  y menos valor  $a^*$ ). Los autores también reportan que el valor  $a^*$  se atribuye al contenido de antocianinas, que es el responsable del enrojecimiento. Un valor  $b^*$  más bajo para las microcápsulas representa una mayor amarillez  $L^*$  y por tanto el polvo formulado como DE 20 es de color más claro que el formulado con DE 10. Esto puede estar asociado a la destrucción de antocianinas en las muestras. Los autores reportan la claridad del color con la pérdida de antocianinas.

En este ensayo también se reportó  $C$  y  $H^\circ$  y encontraron que fue afectada significativamente por el valor DE. Encontrando los polvos con DE 10 con mayor intensidad de color que los preparados con 20 DE. Con lo anterior los autores concluyeron que a mayor DE, mayor pérdida de antocianinas (**Tabla 18 ensayo 1**).

}Nayak & Rastogi, (2010) por su parte, hicieron la evaluación de un rango más amplio DE desde DE 06, 19, 21 y 33. Ellos encontraron que el valor  $C$  aumentó significativamente en DE 06 a 19 pero después no hubo un cambio significativo. En

**Tabla 18.** Efectos del DE de la maltodextrina usadas como material de pared sobre los parámetros de color. Ensayo 1 uso espacio CIELab y a partir de este con operaciones matemáticas halló  $H^\circ$  y  $C$ . Ensayo 2 usó espacio CIELCh.

Ensayo	Matriz de extracción	Encapsulación	Tipo de muestra	Color	Parámetros de color					Referencia
					$L^*$	$a^*$	$b^*$	$H^\circ$	$C$	
1	<i>Rubus</i> spp.	FD	MD DE 10		34.34±0.57	20.96±0.08	6.51±0.06	0.30±0.00	21.94±0.09	(Yamashita et al., 2017)
			MD DE 20		41.94±0.28	18.84±0.20	4.01±0.05	0.21±0.00	19.26±0.21	
			MD DE 06		61.60			11.55±0.34	48.44±1.45	
			MD DE 19		55.43			11.38±0.34	52.10±1.56	
2	<i>Garcinia indica</i>	SD	MD DE 21		56.87			12.22±0.36	51.84±1.55	(Nayak & Rastogi, 2010)
			MD DE 33		53.04	nd	nd	13.13±0.39	50.98±1.52	
			Maltodextrina DE 21.025% fosfato tricálcico y 0.25% goma acacia		54.78			13.17±0.39	54.28±1.62	

cuanto al  $H^\circ$  no tuvo un cambio significativo hasta DE 21 pero si aumento cuando se formuló con DE 33. En cuanto al valor  $L^*$  tuvo tendencia con el aumento del valor DE a disminuir, encontrando tonos más oscuros con el aumento del DE (**Tabla 17 ensayo 2**).

En este estudio también se evaluó la adición de goma arábica y fosfato tricálcico a la maltodextrina y fue el que tuvo mayores valores de  $H^\circ$  y  $C$  (**Tabla 18 ensayo 2**). Además, también fue el material de pared elegido como óptimo por tener la menor higroscopicidad, la mayor actividad antioxidante y el más alto contenido de antocianinas. Estos dos agentes adicionados son conocidos uno por tener propiedades emulsificantes y el otro disminuye la higroscopicidad y aumenta actividad antioxidante (Nayak & Rastogi, 2010).

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Ab Rashid, S., Tong, W. Y., Leong, C. R., Abdul Ghazali, N. M., Taher, M. A., Ahmad, N., Tan, W. N., & Teo, S. H. (2021). Anthocyanin Microcapsule from *Clitoria ternatea*: Potential Bio-preservative and Blue Colorant for Baked Food Products. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 46(1), 65–72. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-04716-y>
- Abou-Arab, A. a, Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. a. (2011). Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*). *Journal of American Science*, 7(7), 445–456. [http://jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0707/067\\_6293am0707\\_445\\_456.pdf](http://jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0707/067_6293am0707_445_456.pdf)
- Adjé, F., Lozano, Y. F., Lozano, P., Adima, A., Chemat, F., & Gaydou, E. M. (2010). Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.011>
- Aguilera, Y., Mojica, L., Rebollo-Hernanz, M., Berhow, M., De Mejía, E. G., & Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Black bean coats: New source of anthocyanins stabilized by  $\beta$ -cyclodextrin copigmentation in a sport beverage. *Food Chemistry*, 212, 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.022>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, 181, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003>
- Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jaboticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, 316(December 2019), 126364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364>
- Alexandra Pazmio-Durán, E., Giusti, M. M., Wrolstad, R. E., & Glória, M. B. A. (2001). Anthocyanins from banana bracts (*Musa X paradisiaca*) as potential food colorants. *Food Chemistry*, 73(3), 327–332. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00305-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00305-8)
- Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914–922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
- Amelia, F., Afnani, G. N., Musfiroh, A., Fikriyani, A. N., & Ucche, S. (2013). Extraction and Stability Test of Anthocyanin From Buni Fruits (*Antidesma Bunius* L) As an Alternative Natural and Safe Food Colorants. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 49–53. <https://doi.org/10.14499/jfps>
- Arici, M., Karasu, S., Baslar, M., Toker, O. S., Sagdic, O., & Karaagacli, M. (2016).

- Tulip petal as a novel natural food colorant source: Extraction optimization and stability studies. *Industrial Crops and Products*, 91, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.003>
- Aryanti, N., Nafiunisa, A., & Wardhani, D. H. (2019). Conventional and ultrasound-assisted extraction of anthocyanin from red and purple roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces and characterisation of its anthocyanin powder. *International Food Research Journal*, 26(2), 529–535.
- Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2019). Advances in Spray-Drying Encapsulation of Food Bioactive Ingredients: From Microcapsules to Nanocapsules. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 103–131. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121641>
- Assous, M. T. M., Abdel-Hady, M. M., & Medany, G. M. (2014). Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2014.06.001>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Babova, O., Occhipinti, A., Capuzzo, A., & Maffei, M. E. (2016). Extraction of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) antioxidants using supercritical/subcritical CO<sub>2</sub> and ethanol as co-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, 107, 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.029>
- Bakowska-Barczak, A. (2005). Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants : A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(2), 107–116.
- Bao, J., Cai, Y., Sun, M., Wang, G., & Corke, H. (2005). Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of Chinese Bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their color properties and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2327–2332. <https://doi.org/10.1021/jf048312z>
- Bayram, O., Sagdic, O., & Ekici, L. (2015). Natural food colorants and bioactive extracts from some edible flowers. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88, 170–176. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2015.088.024>
- Begum, Y. A., & Deka, S. C. (2017). Stability of spray-dried microencapsulated anthocyanins extracted from culinary banana bract. *International Journal of Food Properties*, 20(12), 3135–3148. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1277739>
- Benvenuti, S., Bortolotti, E., & Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, 199, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.052>
- Bonechi, C., Donati, A., Tamasi, G., Pardini, A., Rostom, H., Leone, G., Lamponi, S., Consumi, M., Magnani, A., & Rossi, C. (2019). Chemical characterization of liposomes containing nutraceutical compounds: Tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein. *Biophysical Chemistry*, 246(November 2018), 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2019.01.002>
- Bouras, M., Chadni, M., Barba, F. J., Grimi, N., Bals, O., & Vorobiev, E. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Quercus*

- bark. *Industrial Crops and Products*, 77, 590–601. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.018>
- Brito, A., Areche, C., Sepúlveda, B., Kennelly, E. J., & Simirgiotis, M. J. (2014). Anthocyanin characterization, total phenolic quantification and antioxidant features of some Chilean edible berry extracts. *Molecules*, 19(8), 10936–10955. <https://doi.org/10.3390/molecules190810936>
- Buchweitz, M., Brauch, J., Carle, R., & Kammerer, D. R. (2013). Application of ferric anthocyanin chelates as natural blue food colorants in polysaccharide and gelatin based gels. *Food Research International*, 51(1), 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.030>
- Bueno, J. M., Sáez-Plaza, P., Ramos-Escudero, F., Jiménez, A. M., Fett, R., & Asuero, A. G. (2012). Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II: Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(2), 126–151. <https://doi.org/10.1080/10408347.2011.632314>
- Carmona, I. (2013). De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria. *Agrimundo, ODEPA, Ministerio de Agricultura Chile*, 5, 1–6. [http://www.agrimundo.gob.cl/wp-content/uploads/130426\\_reporte\\_alimentos\\_procesados\\_n51.pdf](http://www.agrimundo.gob.cl/wp-content/uploads/130426_reporte_alimentos_procesados_n51.pdf)
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. T., & Meireles, M. A. A. (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food Research International*, 44(2), 499–509. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.007>
- Cendrowski, A., Scibisz, I., Mitek, M., Kieliszek, M., & Kolniak-Ostek, J. (2017). Profile of the Phenolic Compounds of *Rosa rugosa* Petals. *Journal of Food Quality*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7941347>
- Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86(1), 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>
- Chatham, L. A., Howard, J. E., & Juvik, J. A. (2020). A natural colorant system from corn: Flavone-anthocyanin copigmentation for altered hues and improved shelf life. *Food Chemistry*, 310, 125734. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125734>
- Chattopadhyay, P., Chatterjee, S., & Sen, S. K. (2008). Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. *African Journal of Biotechnology*, 7(17), 2972–2985. <https://doi.org/10.4314/ajb.v7i17.59211>
- Chen, L., Yang, M., Mou, H., & Kong, Q. (2018). Ultrasound-assisted extraction and characterization of anthocyanins from purple corn bran. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13377>
- Cheng, A. W., Xie, H. X., Qi, Y., Liu, C., Guo, X., Sun, J. Y., & Liu, L. N. (2017). Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. *LWT - Food*

- Science and Technology*, 78, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.027>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D. J. (2015). Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. *Food Research International*, 76, 761–768. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.003>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D. J. (2016). Stabilization of natural colors and nutraceuticals: Inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. *Food Chemistry*, 212, 596–603. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.025>
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D. J. (2017). Stability improvement of natural food colors: Impact of amino acid and peptide addition on anthocyanin stability in model beverages. *Food Chemistry*, 218, 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.087>
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Claudie, D. M., & Dornier, M. (2009). Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the arrhenius, eyring, and ball models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6285–6291. <https://doi.org/10.1021/jf900836b>
- Cortez, R., Luna-Vital, D. A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 180–198. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12244>
- Da Silva, L. P., Pereira, E., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Pires, T. C. S. P., Alves, M. J., Calhelha, R., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). *Rubus ulmifolius* Schott as a Novel Source of Food Colorant: Extraction optimization of coloring pigments and incorporation in a bakery product. *Molecules*, 24(11). <https://doi.org/10.3390/molecules24112181>
- de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Garcia, A. O., Queiroz, M. B., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2019). Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. *Food Research International*, 121(November 2018), 542–552. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.010>
- de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2018). Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. *Food Chemistry*, 241, 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.095>
- de Moura, S. C. S. R., Schettini, G. N., Garcia, A. O., Gallina, D. A., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2019). Stability of Hibiscus Extract Encapsulated by Ionic Gelation Incorporated in Yogurt. *Food and Bioprocess Technology*, 12(9), 1500–1515. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02308-9>
- De Souza, V. B., Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., & Fávaro-Trindade, C. S. (2015). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and Bioprocess Technology*, 93(June), 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.11.001>
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A. R., & Paredes-Lopez, O. (2010). Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. In *Critical*



*Reviews in Food Science and Nutrition*, 40:3 (Issue October).

- Duangkhamchan, W., & Siriamornpun, S. (2015). Quality attributes and anthocyanin content of rice coated by purple-corn cob extract as affected by coating conditions. *Food and Bioproducts Processing*, 96, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.07.012>
- Duangmal, K., Saicheua, B., & Sueeprasan, S. (2008). Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. *LWT - Food Science and Technology*, 41(8), 1437–1445. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.08.014>
- Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 805–812. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.009>
- Espín, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J., & García-Viguera, C. (2000). Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1588–1592. <https://doi.org/10.1021/jf9911390>
- Estupiñan, D. C., Schwartz, S. J., & Garzón, G. A. (2011). Antioxidant Activity, Total Phenolics Content, Anthocyanin, and Color Stability of Isotonic Model Beverages Colored with Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth) Anthocyanin Powder. *Journal of Food Science*, 76(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01935.x>
- Fenger, J. A., Roux, H., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Dangles, O. (2021). The influence of phenolic acyl groups on the color of purple sweet potato anthocyanins and their metal complexes. *Dyes and Pigments*, 185(PA), 108792. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108792>
- Fernández-López, J. A., Angosto, J. M., Giménez, P. J., & León, G. (2013). Thermal Stability of Selected Natural Red Extracts Used as Food Colorants. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(1), 11–17. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0337-1>
- Franceschinis, L., Salvatori, D. M., Sosa, N., & Schebor, C. (2014). Physical and Functional Properties of Blackberry Freeze- and Spray-Dried Powders. *Drying Technology*, 32(2), 197–207. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.814664>
- Fredes, C., Becerra, C., Parada, J., & Robert, P. (2018). The microencapsulation of maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz) juice by spray-drying and freeze-drying produces powders with similar anthocyanin stability and bioaccessibility. *Molecules*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/molecules23051227>
- Fu, X., Cheng, S., Liao, Y., Huang, B., Du, B., Zeng, W., Jiang, Y., Duan, X., & Yang, Z. (2018). Comparative analysis of pigments in red and yellow banana fruit. In *Food Chemistry* (Vol. 239). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.046>
- Gandía-Herrero, F., Cabanes, J., Escribano, J., García-Carmona, F., & Jiménez-Atiénzar, M. (2013). Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(18), 4294–4302. <https://doi.org/10.1021/jf400337g>
- Garzón, G. A., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2009). Determination of anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant activity in Andes berry (*Rubus glaucus* Benth). *Journal of Food Science*, 74(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x>
- Garzón, G. A., & Wrolstad, R. E. (2009). Major anthocyanins and antioxidant activity

- of Nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). *Food Chemistry*, 114(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.013>
- Garzón, Gloria Astrid. (2010). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biologica Colombiana*, 13(3), 27–36.
- Ge, Q., & Ma, X. (2013a). Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (*An ning*). *Food Science and Human Wellness*, 2(2), 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2013.04.001>
- Ge, Q., & Ma, X. (2013b). Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (*An ning*). *Food Science and Human Wellness*, 2(2), 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2013.04.001>
- Ge, X., Wan, Z., Song, N., Fan, A., & Wu, R. (2009). Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. *Journal of Food Engineering*, 94(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.02.021>
- Gérard, V., Ay, E., Morlet-Savary, F., Graff, B., Galopin, C., Ogren, T., Mutilangi, W., & Lalevé, J. (2019). Thermal and Photochemical Stability of Anthocyanins from Black Carrot, Grape Juice, and Purple Sweet Potato in Model Beverages in the Presence of Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5647–5660. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01672>
- Ghada, B., Pereira, E., Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, C., Calhelha, R. C., Stojkovic, D., Sokóvic, M., Zaghdoudi, K., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Recovery of anthocyanins from passion fruit epicarp for food colorants: Extraction process optimization and evaluation of bioactive properties. *Molecules*, 25(14). <https://doi.org/10.3390/molecules25143203>
- Gironés-Vilaplana, A., Baenas, N., Villaño, D., Speisky, H., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2014). Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *Journal of Functional Foods*, 7(1), 599–608. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.025>
- Gironés-Vilaplana, A., Mena, P., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2012). A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. *LWT - Food Science and Technology*, 47(2), 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.020>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217–225. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00221-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00221-8)
- Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1316–1323. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020>
- Gomes, L. M. M., Petito, N., Costa, V. G., Falcão, D. Q., & De Lima Araújo, K. G. (2014). Inclusion complexes of red bell pepper pigments with  $\beta$ -cyclodextrin: Preparation, characterisation and application as natural colorant in yogurt. *Food Chemistry*, 148, 428–436. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.065>
- Guan, Y., & Zhong, Q. (2015). The improved thermal stability of anthocyanins at pH 5.0 by gum arabic. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 706–712. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.018>
- He, B., Ge, J., Yue, P., Yue, X. Y., Fu, R., Liang, J., & Gao, X. (2017). Loading of

- anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage. *Food Chemistry*, *221*, 1671–1677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.120>
- He, Y., Wen, L., Yu, H., Zheng, F., Wang, Z., Xu, X., Zhang, H., Cao, Y., Wang, B., Chu, B., & Hao, J. (2018). Effects of high hydrostatic pressure-assisted organic acids on the copigmentation of *Vitis amurens* Rupr anthocyanins. *Food Chemistry*, *268*(December 2017), 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.052>
- Hellström, J., Mattila, P., & Karjalainen, R. (2013). Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures. *Journal of Food Composition and Analysis*, *31*(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.010>
- Ibrahim Silva, P., Stringheta, P. C., Teofilo, R. F., & De Oliveira, I. R. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, *117*(4), 538–544. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>
- Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. (2012). Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Food Process Engineering*, *35*(4), 522–542. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00605.x>
- IK, M., & Uthman ISAH, K. (2015). The Effect on Extracting Solvents using Natural Dye Extracts from *Hyphaene thebaica* for Dye-sensitized Solar Cells. *Journal of Material Science & Engineering*, *05*(01). <https://doi.org/10.4172/2169-0022.1000208>
- Iorizzo, M., Curaba, J., Pottorff, M., Ferruzzi, M. G., Simon, P., & Cavagnaro, P. F. (2020). Carrot anthocyanins genetics and genomics: Status and perspectives to improve its application for the food colorant industry. *Genes*, *11*(8), 1–36. <https://doi.org/10.3390/genes11080906>
- Islam, S. (2016). Anthocyanin Compositions in Different Colored *Gladiolus* Species : A Source of Natural Food Colorants. *American Journal of Food Science and Technology*, *4*(4), 109–114. <https://doi.org/10.12691/ajfst-4-4-4>
- Jafari, S. M., Ghalegi Ghalenoei, M., & Dehnad, D. (2017). Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, *311*, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.070>
- Jafari, S. M., Mahdavi-Khazaei, K., & Hemmati-Kakhki, A. (2016). Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. *Carbohydrate Polymers*, *140*, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.079>
- Javier David Vega, A., Hector, R.-E., Juan Jose, L.-G., Maria L, L.-G., Paola, H.-C., Raúl, Á.-S., & Carlos Enrique, O.-V. (2017). Effect of solvents and extraction methods on total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas peel. *Czech Journal of Food Sciences*, *35*(No. 5), 456–465. <https://doi.org/10.17221/316/2016-cjfs>
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material.

- Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889–894.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.012>
- Journal, O., Dabas, D., & Kean, G. (2014). ADVANCES IN FOOD TECHNOLOGY AND NUTRITIONAL SCIENCES Red Natural Colors for High pH Applications Article History Citation. *Adv Food Technol Nutr Sci Open J*, 1(1), 10–16.  
<http://dx.doi.org/10.17140/AFTNSOJ-1-103>
- Juan, R. S. (2013). La química de los colorantes en los alimentos. *Química Viva*, 12, 234–246. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86329278005>
- Junior, M. R. M., Leite, A. V., & Dragano, N. R. V. (2014). Supercritical Fluid Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds From Natural Sources – Review (Supercritical Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds). *The Open Chemical Engineering Journal*, 4(1), 51–60.  
<https://doi.org/10.2174/1874123101004010051>
- Junqueira-Gonçalves, M. P., Yáñez, L., Morales, C., Navarro, M., Contreras, R. A., & Zúñiga, G. E. (2015). Isolation and characterization of phenolic compounds and anthocyanins from murta (*Ugni molinae* Turcz.) fruits. Assessment of antioxidant and antibacterial activity. *Molecules*, 20(4), 5698–5713.  
<https://doi.org/10.3390/molecules20045698>
- Kara, Ş., & Erçelebi, E. A. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Food Engineering*, 116(2), 541–547. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.030>
- Khazaei, K. M., Jafari, S. M., Ghorbani, M., Kakhki, A. H., & Sarfarazi, M. (2016). Optimization of Anthocyanin Extraction from Saffron Petals with Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 9(7), 1993–2001.  
<https://doi.org/10.1007/s12161-015-0375-4>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61(1), 0–21.  
<https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kim, D. M., Bae, J. S., Lee, D. S., Lee, H., Joo, M. H., & Yoo, S. H. (2011). Positive effects of glycosylated anthocyanin isolated from an edible berry fruit (*Acanthopanax sessiliflorum*) on its antioxidant activity and color stability. *Food Research International*, 44(7), 2258–2263.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.021>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569–576.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>
- Lakshmi, C. (2014). Food Coloring: The Natural Way. *Research Journal of Chemical Sciences Res. J. Chem. Sci*, 4(2), 2231–2606.
- Lao, F., & Giusti, M. M. (2017). The effect of pigment matrix, temperature and amount of carrier on the yield and final color properties of spray dried purple corn (*Zea mays* L.) cob anthocyanin powders. *Food Chemistry*, 227, 376–382.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.091>
- Laokuldilok, T., & Kanha, N. (2015). Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. *Lwt*, 64(1), 405–411.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.015>

- Laokuldilok, T., & Kanha, N. (2017). Microencapsulation of Black Glutinous Rice Anthocyanins Using Maltodextrins Produced from Broken Rice Fraction as Wall Material by Spray Drying and Freeze Drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12877>
- Lee, J. H., Lee, H. J., & Choung, M. G. (2011). Anthocyanin compositions and biological activities from the red petals of Korean edible rose (*Rosa hybrida* cv. Noblered). *Food Chemistry*, *129*(2), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.040>
- Lee, J., & Wrolstad, R. E. (2004). Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry-processing waste. *Journal of Food Science*, *69*(7), 564–573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13651.x>
- Leichtweis, M. G., Pereira, C., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Baraldi, I. J., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Ultrasound as a Rapid and Low-Cost Extraction Procedure to Obtain Anthocyanin-Based Colorants from *Prunus spinosa* L. Fruit epicarp: Comparative study with conventional heat-based extraction. *Molecules*, *24*(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules24030573>
- Li, J., Li, X. D., Zhang, Y., Zheng, Z. D., Qu, Z. Y., Liu, M., Zhu, S. H., Liu, S., Wang, M., & Qu, L. (2013). Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices. *Food Chemistry*, *136*(3–4), 1429–1434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.054>
- Li, R., Wang, P., Guo, Q. qi, & Wang, Z. yu. (2011). Anthocyanin composition and content of the *Vaccinium uliginosum* berry. *Food Chemistry*, *125*(1), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.046>
- Liu, F. F., Ang, C. Y. W., & Springer, D. (2000). Optimization of extraction conditions for active components in *Hypericum perforatum* using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3364–3371. <https://doi.org/10.1021/jf991086m>
- Longo, L., Scardino, A., & Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *8*(3), 360–364. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.010>
- Longo, L., & Vasapollo, G. (2005). Anthocyanins from bay (*Laurus nobilis* L.) berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(20), 8063–8067. <https://doi.org/10.1021/jf051400e>
- Longo, L., & Vasapollo, G. (2006). Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*, *94*(2), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.008>
- López, C. J., Caleja, C., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from *Arbutus unedo* L. Fruits. *Food Chemistry*, *264*(May), 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.103>
- Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2016). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, *53*(1), 461–470.

<https://doi.org/10.1007/s13197-015-2002-1>

- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P., & Moontree, T. (2015). Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.12.009>
- Luna-Vital, D., Cortez, R., Ongkowijoyo, P., & Gonzalez de Mejia, E. (2018). Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. *Food Research International*, 105, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.009>
- Luna-Vital, D., Li, Q., West, L., West, M., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Anthocyanin condensed forms do not affect color or chemical stability of purple corn pericarp extracts stored under different pHs. *Food Chemistry*, 232, 639–647. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.169>
- Machado, A. P. D. F., Pasquel-Reátegui, J. L., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2015). Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. *Food Research International*, 77, 675–683. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.042>
- Mahdavee Khazaei, K., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Hemmati Kakhki, A. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.042>
- Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A., & Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 509–514. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021>
- Mansour, M., Salah, M., & Xu, X. (2020). Effect of microencapsulation using soy protein isolate and gum arabic as wall material on red raspberry anthocyanin stability, characterization, and simulated gastrointestinal conditions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104927. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104927>
- Mapari, S. A. S., Thrane, U., & Meyer, A. S. (2010). Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? *Trends in Biotechnology*, 28(6), 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.03.004>
- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science and Technology*, 52, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009>
- Martins Strieder, M., Keven Silva, E., & Angela A. Meireles, M. (2019). Specific Energy: A New Approach to Ultrasound-assisted Extraction of Natural Colorants. *Food and Public Health*, 9(2), 45–52. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20190902.02>
- Martynenko, A., & Chen, Y. (2016). Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *Journal of Food Engineering*, 171, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.10.008>
- Mehmood, A., Ishaq, M., Zhao, L., Yaqoob, S., Safdar, B., Nadeem, M., Munir, M., & Wang, C. (2019). Impact of ultrasound and conventional extraction techniques

- on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 51, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.10.013>
- Mishra, P. K., Singh, P., Gupta, K. K., Tiwari, H., & Srivastava, P. (2012). Extraction of natural dye from *Dahlia variabilis* using ultrasound. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 37(1), 83–86.
- Mojica, L., Berhow, M., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Black bean anthocyanin-rich extracts as food colorants: Physicochemical stability and antidiabetes potential. *Food Chemistry*, 229, 628–639. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.124>
- Nayak, C. A., & Rastogi, N. K. (2010). Effect of selected additives on microencapsulation of anthocyanin by spray drying. *Drying Technology*, 28(12), 1396–1404. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.482705>
- Nicoué, E. É., Savard, S., & Belkacemi, K. (2007). Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: Extraction and identification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5626–5635. <https://doi.org/10.1021/jf0703304>
- Nontasan, S., Moongngarm, A., & Deeseenthum, S. (2012). Application of Functional Colorant Prepared from Black Rice Bran in Yogurt. *APCBEE Procedia*, 2, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.012>
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., & Fernández-López, J. A. (2009). Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>
- Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (*Bactris guineensis*) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6977–6985. <https://doi.org/10.1021/jf100536g>
- Özgür, M. Ü., & Çimen, E. (2018). Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Red Rose Petals and New Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Monomeric Anthocyanins. *Journal of AOAC International*, 101(4), 967–980. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0307>
- Padma, V., & Dhara, S. (2011). Natural Dyeing with Anthocyanins from *Hibiscus rosa sinensis* Flowers. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2658–2667. <https://doi.org/10.1002/app>
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
- Peng, J., Jia, Y., Du, X., Wang, Y., Yang, Z., & Li, K. (2019). Study of physicochemical stability of anthocyanin extracts from black peanut skin and their digestion enzyme and adipogenesis inhibitory activities. *Lwt*, 107(November 2018), 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.016>
- Pereira Souza, A. C., Deyse Gurak, P., & Damasceno Ferreira Marczak, L. (2017). Maltodextrin, pectin and soy protein isolate as carrier agents in the encapsulation of anthocyanins-rich extract from jaboticaba pomace. *Food and Bioprocess Processing*, 102, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.12.012>
- Peron, D. V., Fraga, S., & Antelo, F. (2017). Thermal degradation kinetics of

- anthocyanins extracted from juçara (*Euterpe edulis* Martius) and “Italia” grapes (*Vitis vinifera* L.), and the effect of heating on the antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 232, 836–840. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.088>
- Petrova, I., Petkova, N., & Ivanov, I. (2016). Five edible flowers – Valuable source of antioxidants in human nutrition. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(4), 604–610.
- Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, 309–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.118>
- Pires, T. C. S. P., Dias, M. I., Barros, L., Barreira, J. C. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Incorporation of natural colorants obtained from edible flowers in yogurts. *Lwt*, 97(August), 668–675. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.013>
- Piyapanrungrueang, W., Chantrapornchai, W., Haruthaithanasan, V., Sukatta, U., & Aekatanawan, C. (2016). Comparison of Anthocyanin Extraction Methods from High Anthocyanin Purple Corn Cob Hybrid: KPSC 901, and Quality of the Extract Powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 1125–1133. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12693>
- Quiñones, R., & Coy-Barrera, E. (2015). COMPOSICIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS DE CINCO FENOTIPOS DE MAÍZ COLOREADO (*Zea mays*) DE LA REGIÓN CENTRAL COLOMBIANA. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 4(1), 38–51. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v4n1.49822>
- Rabelo, C. A. S., Taarji, N., Khalid, N., Kobayashi, I., Nakajima, M., & Neves, M. A. (2018). Formulation and characterization of water-in-oil nanoemulsions loaded with açai berry anthocyanins: Insights of degradation kinetics and stability evaluation of anthocyanins and nanoemulsions. *Food Research International*, 106(2017), 542–548. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.017>
- Ramirez, J. E., Zambrano, R., Sepúlveda, B., Kennelly, E. J., & Simirgiotis, M. J. (2015). Anthocyanins and antioxidant capacities of six Chilean berries by HPLC-HR-ESI-ToF-MS. *Food Chemistry*, 176, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.039>
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(7), 1386–1394. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x>
- Ruiz, A., Hermosín-Gutiérrez, I., Mardones, C., Vergara, C., Herlitz, E., Vega, M., Dorau, C., Winterhalter, P., & Von Baer, D. (2010). Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6081–6089. <https://doi.org/10.1021/jf100173x>
- Ruiz, A., Hermosín-Gutiérrez, I., Vergara, C., von Baer, D., Zapata, M., Hitschfeld, A., Obando, L., & Mardones, C. (2013). Anthocyanin profiles in south Patagonian wild berries by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Research International*, 51(2), 706–713. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.043>
- Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., Tekinay, T., Polat, B., Tastemur, B., Bayram, O., &



- Senturk, B. (2013). Cytotoxic and bioactive properties of different color tulip flowers and degradation kinetic of tulip flower anthocyanins. *Food and Chemical Toxicology*, *58*, 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.021>
- Salacheep, S., Kasemsiri, P., Pongsa, U., Okhawilai, M., Chindapasirt, P., & Hiziroglu, S. (2020). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and bioactive compounds from butterfly pea petals using Taguchi method and Grey relational analysis. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(10), 3720–3730. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04404-7>
- Santiago, M. C. P. de A., Nogueira, R. I., Paim, D. R. S. F., Gouvêa, A. C. M. S., Godoy, R. L. de O., Peixoto, F. M., Pacheco, S., & Freitas, S. P. (2016). Effects of encapsulating agents on anthocyanin retention in pomegranate powder obtained by the spray drying process. *LWT - Food Science and Technology*, *73*, 551–556. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.059>
- Sari, P., Wijaya, C. H., Sajuthi, D., & Supratman, U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, *132*(4), 1908–1914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.025>
- Shikov, V., Kammerer, D. R., Mihalev, K., Mollov, P., & Carle, R. (2008). Heat stability of strawberry anthocyanins in model solutions containing natural copigments extracted from rose (*Rosa damascena* Mill.) petals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(18), 8521–8526. <https://doi.org/10.1021/jf801946g>
- Sigurdson, G. T., Tang, P., & Giusti, M. M. (2017). Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology*, *8*(December 2016), 261–280. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025923>
- Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M., & Pintado, M. E. (2017). Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(14), 3072–3083. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087963>
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of Hibiscus sabdariffa extract and evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, *214*, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.071>
- Siti Azima, A. M., Noriham, A., & Manshoor, N. (2014). Anthocyanin content in relation to the antioxidant activity and colour properties of *Garcinia mangostana* peel, *Syzygium cumini* and *Clitoria ternatea* extracts. *International Food Research Journal*, *21*(6), 2369–2375.
- Siti Azima, A. M., Noriham, A., & Manshoor, N. (2017). Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*, *38*, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.018>
- Song, B. J., Sapper, T. N., Burtch, C. E., Brimmer, K., Goldschmidt, M., & Ferruzzi, M. G. (2013). Photo- and thermodegradation of anthocyanins from grape and purple sweet potato in model beverage systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(6), 1364–1372. <https://doi.org/10.1021/jf3044007>

- Sui, X., Bary, S., & Zhou, W. (2016). Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chemistry*, *192*, 516–524. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.021>
- Sui, X., Dong, X., & Zhou, W. (2014). Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. *Food Chemistry*, *163*, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.075>
- Swier, T. L., Chauhan, K., Mukhim, C., Bashir, K., & Kumar, A. (2019). Application of anthocyanins extracted from Sohiong (*Prunus nepalensis* L.) in food processing. *Lwt*, *114*(June), 108360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108360>
- Taha, R. M., Hasbullah, N. A., Rawi, N., & Ramesh, K. (2011). Natural paint production from anthocyanin extracts of *Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook F. *Materials Research Innovations*, *15*(SUPPL. 2), 20–25. <https://doi.org/10.1179/143307511X13031890747417>
- Tan, C., Celli, G. B., Selig, M. J., & Abbaspourrad, A. (2018). Catechin modulates the copigmentation and encapsulation of anthocyanins in polyelectrolyte complexes (PECs) for natural colorant stabilization. *Food Chemistry*, *264*, 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.018>
- Tong, Y., Deng, H., Kong, Y., Tan, C., Chen, J., Wan, M., Wang, M., Yan, T., Meng, X., & Li, L. (2020). Stability and structural characteristics of amylopectin nanoparticle-binding anthocyanins in *Aronia melanocarpa*. *Food Chemistry*, *311*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125687>
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Research International*, *43*(3), 907–914. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.013>
- Truong, V. D., Hu, Z., Thompson, R. L., Yencho, G. C., & Pecota, K. V. (2012). Pressurized liquid extraction and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato genotypes. *Journal of Food Composition and Analysis*, *26*(1–2), 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.006>
- Turcz, U., Lam, B., Fredes, C., Parada, A., & Salinas, J. (2020). Phytochemicals and Traditional Use of Two Southernmost Chilean Berry Fruits : Murta. *Foods*, *9*(54), 1–16.
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2008). Determination of color, pigment, and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as compared to other natural/synthetic colorants. *Journal of Food Science*, *73*(4). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00706.x>
- Wang, B. C., He, R., & Li, Z. M. (2010). The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. *Food Technology and Biotechnology*, *48*(1), 42–49.
- Weber, F., Boch, K., & Schieber, A. (2017). Influence of copigmentation on the stability of spray dried anthocyanins from blackberry. *LWT - Food Science and Technology*, *75*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.042>
- Xu, D. P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., & Li, H. Bin. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry*, *217*, 552–559. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.013>

- Xu, H., Liu, X., Yan, Q., Yuan, F., & Gao, Y. (2015). A novel copigment of quercetagenin for stabilization of grape skin anthocyanins. *Food Chemistry*, *166*, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.125>
- Yamashita, C., Chung, M. M. S., dos Santos, C., Mayer, C. R. M., Moraes, I. C. F., & Branco, I. G. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *LWT - Food Science and Technology*, *84*, 256–262. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.063>
- Yang, Z., & Zhai, W. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *11*(3), 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.03.003>
- Yawadio, R., Tanimori, S., & Morita, N. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry*, *101*(4), 1616–1625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.016>
- Yousuf, B., Gul, K., Wani, A. A., & Singh, P. (2016). Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential Use in Food Systems: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(13), 2223–2230. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805316>
- Yu, Y., & Lv, Y. (2019). Degradation kinetic of anthocyanins from rose (*Rosa rugosa*) as prepared by microencapsulation in freeze-drying and spray-drying. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 2009–2021. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1701011>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, *13*(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zou, T. Bin, Wang, M., Gan, R. Y., & Ling, W. H. (2011). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(5), 3006–3017. <https://doi.org/10.3390/ijms12053006>
- Zozio, S., Pallet, D., & Dornier, M. (2011). Évaluation de la stabilité des anthocyanes au cours du stockage d'une boisson colorée par des extraits de mures andines (*Rubus glaucus* Benth.), d'açai (*Euterpe oleracea* Mart.) et de carottes noires (*Daucus carota* L.). *Fruits*, *66*(3), 203–215. <https://doi.org/10.1051/fruits/2011030>

