

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***Tendencias en el desarrollo de micropartículas
con extractos de residuos agroindustriales de
berries para la elaboración de ingredientes y/o
alimentos funcionales***

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

Sandra Elizabeth Carballo Portillo

Director de Tesis: Dr. Andrés Bustamante Pezoa

Co-Directora de Tesis: Dra. Paz Robert Canales

Firma manuscrita en azul del Dr. Andrés Bustamante Pezoa.

Firma manuscrita en azul de la Dra. Paz Robert Canales.

Santiago-Chile

Enero 2022

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

Sandra Elizabeth Carballo Portillo

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:

Andrés Bustamante Pezoa _____

Co-directora de Tesis:

Paz Robert Canales _____

Comisión Evaluadora de Tesis:

Prof. Alicia Rodríguez _____

Prof. Claudio Olea _____

Prof. Marcos Flores _____

AGRADECIMIENTOS

A mi madre y mi esposo por apoyarme en la realización de mis metas y sueños.

A mis maestros que incansablemente me transmitieron sus conocimientos y me guiaron por el camino de la ciencia y los estudios hasta completar esta maestría.

A mis directores de tesis por su guía y apoyo incondicional en todo este trabajo de investigación.

A mi estimada profesora Alicia Rodríguez, por su valiosísimo apoyo en la gestión administrativa y académica durante todo mi proceso como estudiante extranjera en la U de Chile.

Al gobierno de El Salvador, por su apoyo a través del programa de becas a la excelencia FANTEL, sin el cual no hubiera sido posible la realización de estos estudios.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	vi
ÍNDICE FIGURAS	viii
GLOSARIO.....	ix
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 GENERALIDADES	5
1.1.1 BERRIES: USOS Y PRODUCCIÓN	6
1.1.2 RESIDUOS DE BERRIES: ORIGEN Y POTENCIALES USOS	11
1.1.3 COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS RESIDUOS DE BERRIES.....	15
1.1.3.1 ANTOCIANINAS	19
1.1.4 DETERIORO DE LOS POLIFENOLES SIN PROTECCIÓN ANTE LOS EFECTOS AMBIENTALES	21
1.1.5 ESTUDIOS SOBRE LOS POTENCIALES EFECTOS A LA SALUD DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN RB.	23
1.2 EXTRACCIÓN DE RESIDUOS DE BERRIES.....	26
1.3 MICROENCAPSULACIÓN	27
1.3.1 TECNOLOGÍAS DE MICROENCAPSULACIÓN	28
1.4 ESTABILIDAD Y APLICACIONES EN ALIMENTOS	29
2. APORTE DE CONOCIMIENTO.....	31
3. OBJETIVOS.....	32
3.1. Objetivo general.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4. METODOLOGÍA	33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE RB.....	35

5.1.1 MÉTODOS CONVENCIONALES.....	36
5.1.2 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.....	39
5.1.3 EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.....	41
5.1.4 EXTRACCIÓN POR LÍQUIDO PRESURIZADO (ELP).....	44
5.2 MICROENCAPSULACIÓN	46
5.2.1 AGENTES ENCAPSULANTES.....	48
5.2.1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS AGENTES ENCAPSULANTES MÁS USADOS.....	49
5.2.1.2 CONCENTRACIÓN DE LOS AGENTES ENCAPSULANTES.....	52
5.2.2 MICROENCAPSULACIÓN POR SECADO POR ATOMIZACIÓN.....	53
5.2.2.1 EFECTO DEL ENCAPSULANTE EN SA.....	55
5.2.3 MICROENCAPSULACIÓN POR LIOFILIZACIÓN	56
5.2.4 OTROS	57
5.2.4.1 MICROENCAPSULACIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	58
5.2.4.2 MICROENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA	59
5.2.4.3 MICROENCAPSULACIÓN POR LIPOSOMAS	60
5.2.4.4 MICROENCAPSULACIÓN POR EMULSIONES	61
5.3 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN DE RESIDUOS DE BERRIES.....	62
5.3.1 RB MAS ESTUDIADOS EN MICROENCAPSULACIÓN	67
5.3.2 ENCAPSULANTES UTILIZADOS EN LOS ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN DE ERB	68
5.3.2.1 EFECTO DEL ENCAPSULANTE EN LAS VARIABLES RESPUESTA ESTUDIADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE ERB	69
5.3.2.2 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL AGENTE ENCAPSULANTE EN LOS ESTUDIOS CON ERB.....	73
5.3.3. METODOLOGÍAS MAS USADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE ERB.....	75
5.3.4 VARIABLES ESTUDIADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE ERB POR SECADO POR ATOMIZACIÓN.....	77
5.3.5 ESTUDIOS DE SECADO POR LIOFILIZACIÓN.....	81
5.3.6 OTROS MÉTODOS DE ENCAPSULACIÓN.....	84
5.3.6.1 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA	85
5.3.6.2 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	87

5.3.6.3 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR EMULSIÓN.....	89
5.4 ESTABILIDAD DE ALMACENAMIENTO DE MICROPARTÍCULAS.....	90
5.5 APLICACIONES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS	98
5.5.1 ESTUDIOS DE ADICIÓN DE MICROPARTÍCULAS CON ERB DURANTE EL DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES.....	98
6. CONCLUSIONES.....	108

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Exportaciones de las principales berries en Chile, crecimiento y destinos de las exportaciones (ODEPA, 2020a).....	9
Tabla 2 Composición monomérica de antocianinas en RB (mg/100g).....	19
Tabla 3 Antocianidinas comunes y sus sustituyentes. (Barnes et al., 2009).....	21
Tabla 4 Estudios de extracción de antocianinas con métodos convencionales a partir de residuos de berries.	38
Tabla 5 Estudios de extracción de antocianinas asistido por ultrasonido a partir de residuos de berries.	41
Tabla 6 Estudios de extracción de antocianinas con el método de fluidos supercríticos a partir de residuos de berries.....	43
Tabla 7 Estudios de extracción de antocianinas con el método de líquido presurizado a partir de residuos de berries.....	45
Tabla 8 Comparación entre las diferentes metodologías de extracción de RB.	46
Tabla 9 Estudios de encapsulación de antocianinas de extractos de residuos de berries.	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Exportación de las principales berries en Chile en el periodo enero-diciembre 2019 (US\$ mil FOB y % del total de fruta exportada) (ODEPA, 2020a).	8
Gráfico 2 Superficie (ha) cultivada de berries en Chile por regiones. ODEPA, 2020).	11
Gráfico 3 Distribución de las antocianinas y polifenoles del arándano, en el fruto y subproductos (a y b) y contenido de polifenoles en las moras y en el residuo de moras (c). 1 (Castagnini, 2014); 2 (Lee et al., 2004); 3 (Ospina et al., 2019). R: residuo.....	17
Gráfico 4 Relación entre las variables de extracción; tipo de solvente, temperatura y tiempo de proceso con las antocianinas totales. a: arándano, u: uva, c: cranberrie, f: fresa gro: grosella,	

fra:Frambuesa, m: moras, gru: grumixama, j: jambul. (Santos et al., 2013); (Tumbas et al., 2015); (Hoskin, et al., 2019); (Laaksonen et al., 2011); (Zardo et al., 2017); (Lu et al., 2020); (Machado et al., 2018); (Oancea et al., 2018).	38
Gráfico 5 Residuos de berries estudiados en microencapsulación. (Fuente: tabla 9).....	68
Gráfico 6 Uso porcentual de los agentes encapsulantes en SA y SL de ERB. Ap: aislado de proteína. (Fuente: Tabla 9)	69
Gráfico 7 Porcentajes de los rangos de eficiencias de encapsulación alcanzadas en los estudios con ERB. (Fuente tabla 9).....	72
Gráfico 8 Metodologías estudiadas para la encapsulación de polifenoles a partir de ERB (Fuente: Tabla 9).	76
Gráfico 9 a) correlación entre encapsulantes, Ta y los contenidos de AT y PT en SA b) contenidos de PT (mg GAE/g) y AT (mg C3G/g) a diferentes Ta en SA. (Boonchu et al., 2015); (Lavelli et al., 2017); (Bergamasco et al., 2017); (Dos Santos et al., 2020); (Kuck et, 2016); (Santos et al., 2019); (Lim, et al., 2011); (Rigon et al., 2016); (Rezende et al., 2018); (Brown et al., 2020); (Waterhouse et al., 2017); (Correia et al., 2017); (Lu et al., 2020); (da Fonseca et al., 2018); (Flores et al., 2014).	80
Gráfico 10 %EE AT y PT a diferentes temperaturas. (Ćujić et al., 2019); (Tsali et al., 2018); (Cabral et al., 2018); (Kalušević et al., 2017); (Rezende et al., 2018); (Lu et al., 2020); (Waterhouse et al., 2017); (Flores et al., 2014).	81
Gráfico 11 Contenido de PT (mg GAE/g) y AT (mg C3G/g) a diferentes temperaturas de congelación de en SL usando diferentes agentes encapsulantes. (Lachowicz et al., 2020); (Kuck et al, 2016); (Rezende et al., 2018); (Brown et al., 2020); (Pereira et al., 2017); (Tumbas et al., 2016); (Oancea et al., 2017); (Milea et al., 2019); (Rodríguez et al., 2018); (da Fonseca et al., 2018); (Correia et al., 2017).	82
Gráfico 12 EE (%) obtenidas por SL con diferentes agentes encapsulantes. (1) β -Lactoglobulina; (2) Md y Ga; (3) Md; (4) Ga; (5) Ap trigo con otros; (6) Ap de soya. (Oancea et al., 2017); (Tumbas et al., 2017); (Rezende et al., 2018); (Stoll et al., 2016); (Rodríguez et al., 2018); (Milea et al., 2019).	83
Gráfico 13 Proporción relativa del número de estudios sobre metodologías de encapsulación de RB menos frecuentes. (Constantin et al., 2021); (Lavelli et al., 2019); (Oidtmann et al., 2012); (de Cássia et al., 2021); (Bittencourt et al., 2018); (Santos et al., 2013); (da Fonseca et al., 2018); (Buratto et al., 2021); (Eisinaité et al., 2020); (Bamba et al., 2018).	85
Gráfico 14 Comparación de la estabilidad a 5 °C en ERB y micropartículas de Jabuticaba- quitosano por SA (Cabral et al., 2018).	91
Gráfico 15 Retención de PT (%) en función del tiempo y la temperatura de partículas obtenidas por SA. (Cabral et al., 2018); (Waterhouse et al., 2017)	92
Gráfico 16 Efecto de la temperatura (35 y 55 ° C) y HR (75 y 90%) sobre el contenido AT (mg malvidina 3-5 di glucósido/g), por SA (a, b) y por SL (c, d), utilizando Ap trigo-GA (1) o Ap trigo-GA A-Pec (2) como agentes encapsulantes (da Rocha et al., 2021)	95
Gráfico 17 Efecto del tratamiento de cocción en chocolate y galletas, sobre él % de pérdidas de AT. (Tumbas et al., 2016); (de Cássia et al., 2021); (Gültekin et al., 2016).	99

Gráfico 18 Estabilidad de AT adicionadas en diferentes matrices alimentarias, a distintos tiempos (días) y temperaturas (°C) de almacenamiento. (Tumbas et al., 2016); (Milea et al., 2019); (Rodríguez et al., 2018); (Baldin et al., 2018)	100
--	-----

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1 Berries nativos de Chile con alto contenido de compuestos antioxidantes (a-d) y berries mayormente cultivadas en Chile (e-i) (López et al., 2020) (ODEPA, 2020a).....	6
Figura 2 Principales berries producidas en Chile por región(ODEPA, 2020).....	10
Figura 3 Generación de residuos en la agroindustria de cereza y arándanos. (ODEPA, 2018) ..	13
Figura 4 Acilación de antocianinas. (Barnes et al., 2009)	20
Figura 5 Esqueleto de una antocianina acilada (malvidina-3-(6-acetoilo) glucósido (Barnes et al., 2009).	21
Figura 6 Efecto del pH en la estructura de la antocianina. (Barnes et al., 2009).....	23
Figura 7 Potenciales efectos a la salud de los RB y sus usos en la industria (Patel, 2014); (Klinger et al., 2012)	26
Figura 8 Proceso para el desarrollo de los objetivos específicos.....	34
Figura 9 Proceso típico de extracción con fluido supercrítico (Del Valle et al., 1999).....	43
Figura 10 Estructura química de la maltodextrina a) cadena lineal (2 unidades de glucopiranosas) b) con ramificaciones (Di Battista, 2016).....	50
Figura 11: Unidades de azúcar de la goma arábiga. a) arabinosa; b) galactosa; c) ramnosa; d) ácido glucurónico; e) ácido 4-O-metilglucurónico (Di Battista, 2016).	50
Figura 12 estructura de la Gg a) β -D-manopiranosas; b) α -D-galactopiranosas; c) unidad repetitiva de la Gg (Di Battista, 2016).....	51
Figura 13 Esquema de secador por atomización (Schoubben et al., 2010).....	54
Figura 14 Cantidad relativa de hielo, que se forma en materiales biológicos. A temperatura de equilibrio de fusión (T_m), temperaturas superiores al inicio del derretimiento del hielo y en un estado de máxima concentración de congelado (T_m') (Roos et al., 2017).....	57
Figura 15 Diagrama de equipo de microencapsulación por FS. (1) cilindro de CO ₂ ; (2) filtro de CO ₂ ; (3) manómetros; (4) válvulas; (5) baño termostático; (6) bomba de CO ₂ ; (7) regulador de contrapresión; (8) vaso de preexpansión; (9) válvula micrométrica (Roos et al., 2017).	58
Figura 16 Encapsulación por gelificación iónica. (Ozkan et al., 2019b).	60
Figura 17 SEM de partículas por GI liofilizadas; A magnificación 50x (A) y 100x (B). (Bittencourt et al., 2018)	87
Figura 18 partículas de acaí con PVP por FSAS, razón (1:1) y concentración (3,3 y 2,5 g/L de derecha a izquierda) Buratto et al., (2021).....	88
Figura 19 Foto a 5000x de Micropartículas por SA de quitosano: Jabuticaba. (Cabral et al., 2018)	93
Figura 20 Relación entre las variables que afectan la estabilidad de almacenamiento de MCPs. (Waterhouse et al. 2017; Correia et al. 2017; Cabral et al. 2018; Rocha et al. 2021)	97

GLOSARIO

Agente encapsulante: Son generalmente biopolímeros usados en la encapsulación de compuestos cuya función es actuar como una barrera de permeabilidad física para el oxígeno y otros compuestos, prolongando así la vida útil de los polifenoles encapsulados

Alimento funcional: Cualquier alimento o ingrediente que proporcione un beneficio para la salud superior al que aportan los nutrientes tradicionales que contenga

Antocianinas (A): Polifenoles de la familia de los flavonoides, responsables de los colores púrpura, azul y rojo de muchas frutas.

Berries: Frutas pequeñas y pulposas, muchas de ellas son comestibles pero otras son venenosas. Los berries en general son especies ricas en compuestos fenólicos antioxidantes como flavonoides (flavonoles y antocianinas) y ácidos fenólicos.

Eficiencia de encapsulación (EE): Se refiere al porcentaje de antocianinas encapsuladas respecto al contenido total de antocianinas.

$$EE = \left(\frac{A_{\text{totales}} - A_{\text{superficiales}}}{A_{\text{totales}}} \right) * 100\%$$

Microencapsulación: Tecnología que consiste en el recubrimiento de un gas, líquido o sustancia sólida (núcleo o activo) con un biopolímero o material

secundario (matriz o encapsulante) formando partículas en el rango de 0,5 µm a 200 µm. Además, permitiría la entrega y liberación controlada del activo en un lugar específico (sistema digestivo o en el propio alimento) a una velocidad específica.

Polifenoles: son parte del metabolismo secundario de plantas existen una gran variedad y se caracterizan por tener un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo.

Retención (R): Total de antocianinas contenidas después de la encapsulación, respecto al contenido inicial.

$$R = \left(\frac{A \text{ totales antes de encapsular}}{A \text{ totales despues de encapsular}} \right) * 100\%$$

RESUMEN

Los berries son frutas altamente demandadas a nivel mundial por la industria de fruta fresca y procesadora de alimentos, donde el mercado mundial (2018) se valoró en 18 millones de toneladas métricas con una tasa de crecimiento anual del 1,8%. Durante la elaboración de jugos se genera una cantidad considerable de residuos de berries (RB) que podrían alcanzar alrededor del 20%-30% de la materia prima inicial, lo que presenta un problema medioambiental. Por otro lado, los RB tienen un alto contenido de compuestos fenólicos y en particular de antocianinas, describiéndose extensamente sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Sin embargo, al extraer las antocianinas se pierde la protección natural que les otorga la matriz alimentaria, proyectando a la tecnología de microencapsulación como un método para aumentar la estabilidad de los polifenoles, dar valor agregado a los RB y al mismo tiempo mitigar su impacto medioambiental. En este sentido el objetivo de esta tesis es realizar una revisión de los más recientes avances en tecnologías de encapsulación de antocianinas provenientes de residuos agroindustriales de berries. Para este fin se realizó una búsqueda bibliográfica enfocada en publicaciones de microencapsulación recientes relacionadas con tecnologías de extracción de antocianinas provenientes de RB más comunes, los métodos más frecuentes y/o emergentes en la microencapsulación de antocianinas, y las aplicaciones en alimentos de antocianinas provenientes de residuos de berries como ingredientes o alimentos

funcionales. Se observó que tanto las micropartículas (MCPs) obtenidas, como la matriz alimentaria elegida y su interacción, juegan un rol importante en el desarrollo de un alimento funcional. Para el logro de este objetivo se realizó una búsqueda bibliográfica a través de los principales buscadores de literatura científica como son: Science direct, Researchgate, Springerlink, web of Science, Taylor, Google Scholar, Francis, Scopus, Crossref y Pubmed, entre 2010-2020. Además, se realizó una búsqueda a partir de referencias de los diferentes artículos científicos relacionados al tema. El aporte de esta tesis presenta un marco teórico sistematizado de las principales variables y resultados de los estudios de microencapsulación de polifenoles a partir de residuos de berries. Se espera que esta tesis contribuya a generar información relevante para la selección de tecnologías e ingredientes obtenidos a partir de residuos agroindustriales y su estabilización, con el fin de otorgar valor agregado a materias primas emergentes a nivel nacional.

Palabras de búsqueda: byproduct, pomace, residue, waste, berries, functional.

ABSTRACT

Berries are fruits highly demanded worldwide by the fresh fruit and food processing industry, where the world market (2018) was valued at 18 million metric tons with an annual growth rate of 1.8%. During the production of juices, a considerable amount of berry waste (RB) is generated that could reach around 20% -30% of the initial raw material, which presents an environmental problem. On the other hand, the RB have a high content of phenolic compounds and in particular anthocyanins, their antioxidant and antimicrobial properties being extensively described. However, when anthocyanins are extracted, the natural protection provided by the food matrix is lost, projecting microencapsulation technology as a method to increase the stability of polyphenols, give added value to RB and at the same time mitigate their environmental impact. In this sense, the objective of this thesis is to carry out a review of the most recent advances in anthocyanin encapsulation technologies from berry agroindustry residues. To this end, a bibliographic search was carried out focused on recent microencapsulation publications related to the most common anthocyanin extraction technologies from RB, the most frequent and/or emerging methods in anthocyanin microencapsulation, and the anthocyanin food applications from berry residues as ingredients or functional foods. It was observed that both the microparticles (MCPs) obtained, as well as the chosen food matrix and their interaction, play an important role in the development of a functional food. To achieve this objective,

a bibliographic search was carried out through the main scientific literature search engines such as: Science direct, Researchgate, Springerlink, web of Science, Taylor, Google Scholar, Francis, Scopus, Crossref and Pubmed, between 2010-2020. In addition, a search was carried out from the references of the different scientific articles related to the subject. The contribution of this thesis presents a systematized theoretical framework of the main variables and results of the microencapsulation studies of polyphenols from berry residues. This thesis is expected to contribute to generating relevant information for the selection of technologies and ingredients obtained from agro-industrial waste and its stabilization, in order to provide added value to emerging raw materials at the national level.

Search Words: byproduct, pomace, residue, waste, berries, functional.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

Las frutas son generalmente muy apreciadas por su contenido de vitaminas, fibras minerales y compuestos bioactivos, pero dada su corta vida útil estos son generalmente procesados para mejorar su disponibilidad, generando una alta cantidad de desechos agroindustriales que generan un problema medioambiental. Entre las frutas destacan los berries generalmente definidas como frutas pequeñas y pulposas, muchas de ellas son comestibles pero otras son venenosas. Los berries en general son especies ricas en compuestos fenólicos antioxidantes como flavonoides (flavonoles y antocianinas) y ácidos fenólicos. Estos compuestos varían en su proporción y tipo en cada tipo de berry e incluso dentro de la misma especie (Venskutonis 2020). Los berries son generalmente estudiados por contener un alto nivel de compuestos bioactivos (CB), entre las que destacan: las *Rosáceas* (fresa, frambuesa, mora), *Ericaceae* (arándano), además, calafate (*Berberis microphylla*), uvas (*Vitis vinifera*), maqui (*Aristotelia chilensis*), arándano silvestre (*Vaccinium myrtillus*), bayas de saúco (*Sambucus nigra.*), grosellas (*Ribes rubrum*), baya dorada (*Physalis peruviana*), capulín (*Prunus virginiana*), zarzas árticas (*Rubus arcticus*), moras (*Rubus chamaemorus*), baya de cuervo (*Empetrum nigrum*, *E. hermaphroditum*), arándano rojo (*Vaccinium vitis-idaea*), zarzamora (*Rubus spp.* y *Rubus loganobaccus.*), bayas azules (*Lonicera caerulea*), bayas de Saskatoon

(*Amelanchier alnifolia*), bayas de Rowan (*Sorbus spp.* y mar buckthorn) bayas de espino amarillo (*Hippophae rhamnoides*) (Skrovankova et al. 2015). Chile además de ser uno de los mayores productores de berries, también tiene berries nativos con alto contenido de polifenoles (Fig. 1).

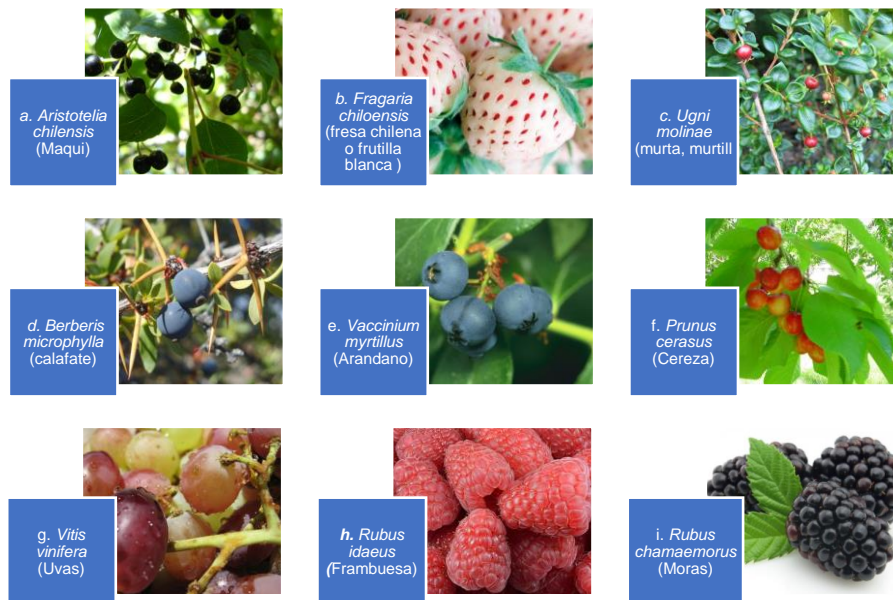


Figura 1 Berries nativos de Chile con alto contenido de compuestos antioxidantes (a-d) y berries mayormente cultivadas en Chile (e-i) (López et al., 2020) (ODEPA, 2020a)

1.1.1 BERRIES: USOS Y PRODUCCIÓN

Los berries o bayas son muy consumidos a nivel mundial debido a sus propiedades benéficas para la salud. Asimismo, los berries tienen una gran variedad de usos en la industria alimentaria dentro de los cuales están: cereales

en barra, jugos, vinos, licores de berries, infusiones, postres, gelatinas, pastas, puré, salsas, saborizantes, confituras (mermeladas, jaleas y dulces), conservas, mezclas con cacao instantáneo, esencia de berries, vinagres saborizados, bebida espumante, y saborizante de jarabes medicinales (Justo *et al.*, 2014). En este sentido hay una alta producción de berries a nivel mundial. El mercado mundial de berries (2018) se valoró en 18 millones de toneladas métricas con una tasa de crecimiento anual del 1,8%. De igual forma, se ha registrado un incremento en el consumo de bebidas especialmente en Estados Unidos y Gran Bretaña. El 70% de los berries es producido por la región Asia-Pacífico, liderado por China y Japón, así las tendencias del mercado colocan a China como el mayor productor de berries del mundo con 4,2 millones de toneladas métricas en el 2018. China es además el mayor productor de fresas y también tiene una alta producción de frambuesas y arándanos (Markets 2019). Dentro de los berries, los arándanos presentan alta demanda mundial por su alta cantidad de compuestos bioactivos, siendo Estados Unidos el principal productor seguido de Chile y China (ODEPA, 2019; ODEPA, 2020; comitedearandanos.cl, 2019). Entre las principales variedades de arándanos en Chile están: Duke, Brigitta, Legacy, O'Neal, Brightwell, Elliot y Bluecrop (CIREN, 2017; ODEPA, 2018). Una tendencia creciente son los berries orgánicas y vinos orgánicos, solo para Chile en el 2016 representaron 43 (ProChile 2017) y 42 (ProChile 2017) millones de dólares en exportaciones respectivamente. Chile es uno de los principales exportadores de berries a nivel mundial. Así, para el periodo enero – diciembre 2019 el total de

fruta exportada fue de 3,44 millones de toneladas y US\$ 7.155 millones FOB (ODEPA; Boletín de fruta, Enero de 2020). Entre las frutas exportadas, destacan los berries, ocupando 2 de los 4 primeros lugares en ranking de exportación para el periodo 2019. Además, la uva y arándano representaron el 35% de las exportaciones. El detalle de las exportaciones se muestra en el Gráfico 1. La producción, crecimiento y principales destinos de exportación de los principales berries de Chile se muestran en la Tabla 1.

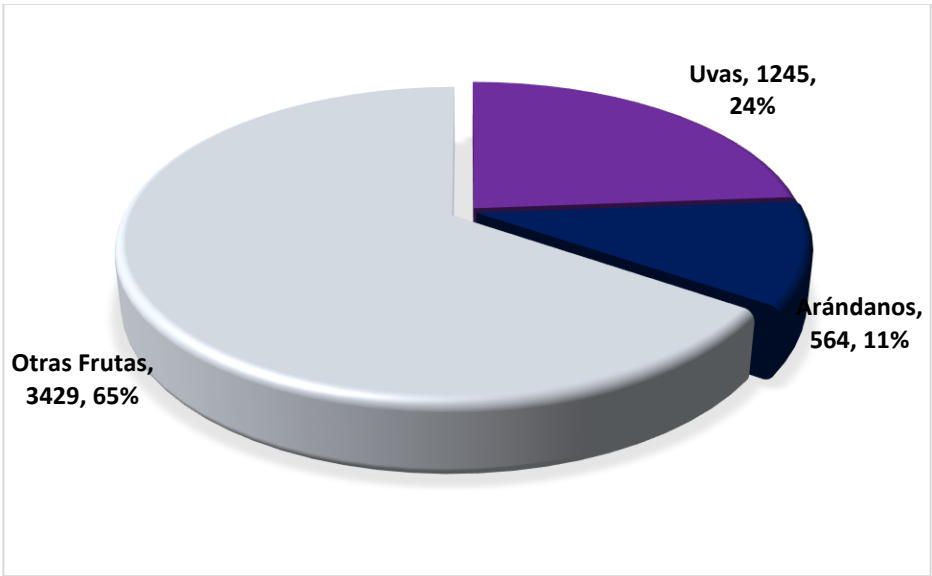


Gráfico 1 Exportación de las principales berries en Chile en el periodo enero-diciembre 2019 (US\$ mil FOB y % del total de fruta exportada) (ODEPA, 2020a).

Tabla 1 Exportaciones de las principales berries en Chile, crecimiento y destinos de las exportaciones (ODEPA, 2020a).

Berry	Ranking de exportación de frutas	Exportación en US\$ mil FOB (2019)	Exportación en mil Ton (2019)	Crecimiento en comparación con el año 2018	Destino de las exportaciones (% del valor)
Uvas	2	1245	653	Disminución de 10% en volumen y un incremento de 1,6% en valor,	Estados Unidos (47) y China (17)
Arándano	4	564	112	Aumento del 7% en volumen	EE.UU. (50), Holanda (14) y China (13).

En Chile se produce una variedad considerable de berries, concentrando el 93% de la producción en las 2 ya mencionadas, un 7% en frambuesa, moras cultivadas e híbridos y cranberry, 1% otras. La producción de berries por regiones en Chile se muestra en la Fig. 2, donde se puede observar en los gráficos de torta del mapa las principales berries cosechadas por cada región.



Figura 2 Principales berries producidas en Chile por región (ODEPA, 2020)

De las 16 regiones en que está dividido Chile, se cultivan berries en 13 de ellas, concentrando el 80% de la producción en solo 6 regiones. Así en el Gráfico 2 se observan las hectáreas cultivadas con berries en las distintas regiones de Chile en orden descendente (ODEPA 2018; 2019; 2020).

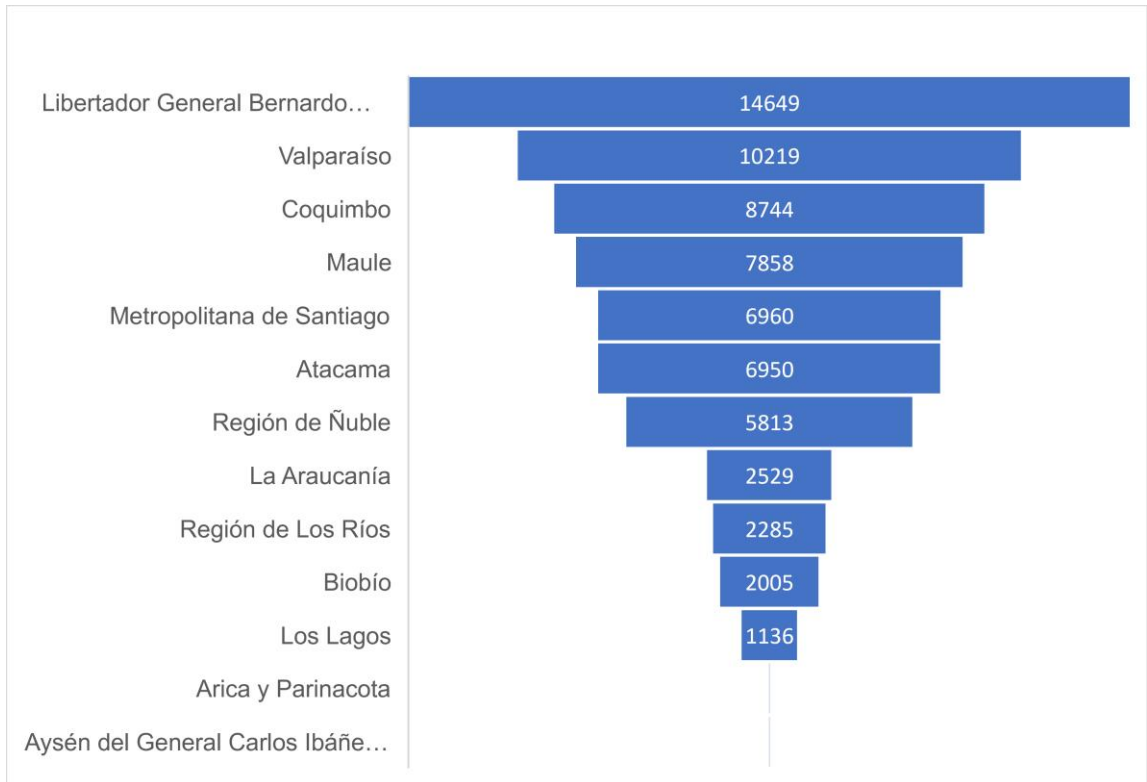


Gráfico 2 Superficie (ha) cultivada de berries en Chile por regiones. ODEPA, 2020).

1.1.2 RESIDUOS DE BERRIES: ORIGEN Y POTENCIALES USOS

Una parte considerable de la producción se procesa a nivel industrial dando origen a cantidades considerables de residuos de berries (RB). En Chile, las exportaciones de frutas procesadas alcanzaron 1.278 mil US\$ y 627 mil de toneladas (ODEPA; Boletín de fruta. Enero de 2020). Dentro de esta categoría, los berries representaron el 23% (327 mil US\$) destacando la frambuesa (45%), los arándanos (31%), la fresa (11%) y la mora (11%). Los berries son

mayormente procesados como congelados (91%), jugos (7%), deshidratados (1%) y finalmente conservas (pulpas, puré y mermeladas) (Herrera 2012). Asimismo, según datos del Comité del Arándano (2019) la producción de jugos de arándano en Chile alcanzó las 55.000 ton en la temporada 2018-2019. En la producción industrial de jugo de arándano, se generan alrededor de 20%-30% de residuos sólidos (Luchese et al. 2018). Basados en este dato, en Chile de las 55.000 ton de arándano usado en producción de jugo, se obtendría alrededor de 16.500 ton de residuos de arándano (RA). Estos residuos corresponden principalmente a piel, pulpa y semillas y contienen la mayoría de las antocianinas y compuestos fenólicos del arándano (Mattivi et al. 2002). Otro sector agroindustrial importante en Chile es la industria vinícola. Según datos de red agrícola, (2017) las exportaciones de vino (2016) alcanzaron 1.870 mil US\$ equivalente a 12.900 mil de litros, colocando a Chile el sexto lugar a nivel mundial. Esta industria generaría aproximadamente un 20% de residuos (orujo). Por otra parte según datos del SAG, (2018) la industria del vino generó 550 mil toneladas de residuos orgánicos (Bertolotto Blas 2020). Además de los vinos también destaca la producción de jugo de uva de 52,4 M US\$ (ODEPA; Boletín de fruta. Enero de 2020). Otra industria importante es la cereza, que aunque no es propiamente berry desde el punto de vista botánico, se le asocia culinariamente a la familia de los berries. El procesamiento de la cereza genera una cantidad de residuos que va del 15 al 28% de la fruta inicial. Según datos de (ODEPA 2018) se destinaron 1.625 miles de kilos de cereza para la producción

de jugo. A manera de ejemplo, en la Fig. 3 se muestran los diferentes subproductos (residuos o pérdidas) generados en la agroindustria de cereza (en base a 2 empresas chilenas que representan el 17% de las exportaciones en el año 2016) y arándano (en base a 4 empresas chilenas que representan el 36% de las exportaciones en el año 2016). Estos subproductos corresponden a: desecho seleccionado (por golpe de sol, manchas, pudrición, herida abierta, partidura, o calibre y apariencia de los arándanos), carozo (endocarpio y semilla) y la torta (piel más pulpa). Por otra parte, en la cosecha de cerezas y arándanos en los huertos, se genera un desecho equivalente al 5% y 7% respectivamente. (ODEPA, 2018). Dado que los residuos de berries son considerables y en la actualidad no poseen un valor agregado sino más bien representan un problema medioambiental, es de interés su estudio para el aprovechamiento de estos RB, en especial de tecnologías que preserven los polifenoles presentes en RB, como es la encapsulación de ERB que se discutirá en este trabajo.

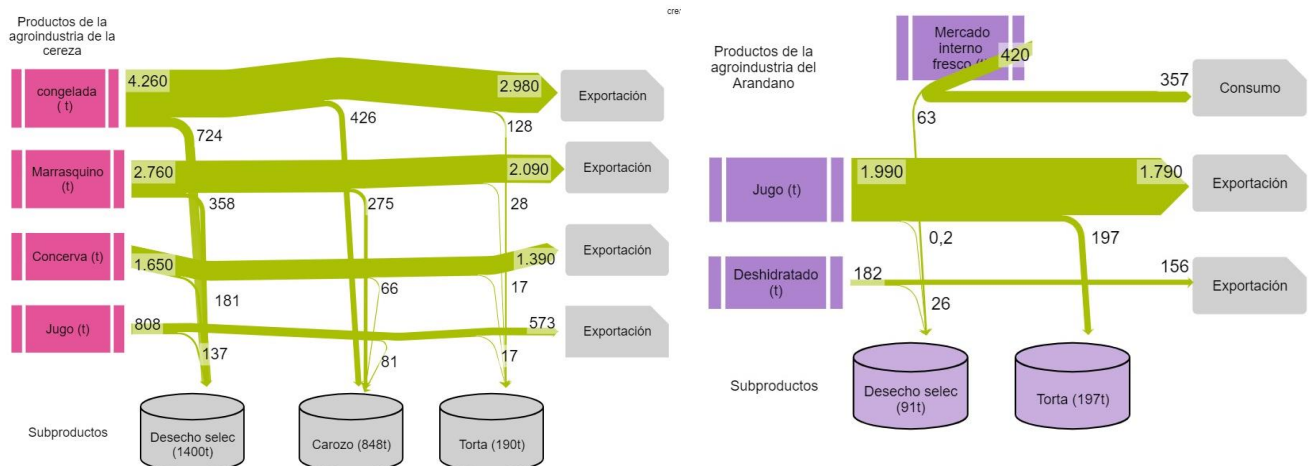


Figura 3 Generación de residuos en la agroindustria de cereza y arándanos. (ODEPA, 2018)

Actualmente existe una tendencia creciente a economías circulares, lo cual ha llevado a un incremento en el interés por la valorización de los residuos agroindustriales (Luchese et al., 2018). En esta tendencia, entre los usos más atractivos de los RB, está la aplicación en alimentos funcionales para la industria alimenticia, nutraceútica y cosmética debido a los aportes a la salud y los CB presentes en los RB (Venskutonis, 2020). Por otra parte, el consumo de berries fresco o procesada ha sido común en la sociedad moderna, los que generalmente experimentan procesos estrictos para el control de su calidad antes de su consumo. Por lo tanto, el uso de los RB no reviste mayor riesgo en término de la inocuidad de estas materias primas. Sin embargo, deben tomarse en cuenta las restricciones respecto al uso de solventes y sus residuos en el producto final. Por otra parte, los berries podrían contener algunos tóxicos naturales, como por ejemplo los encontrados en las semillas de chokeberries negras (Sójka *et al.*, 2013). En el caso de los RB se debe considerar, además, los efectos en la calidad y estabilidad de los compuestos debido al procesamiento térmico y almacenamiento, como también la aceptación sensorial y de costos por parte del consumidor.

Los RB podrían ser incorporados directamente en matrices alimentarias. Sin embargo, los productos podrían ver afectada sus propiedades reológicas. Por ejemplo Schmidt *et al.* (2018) estudiaron el efecto en las propiedades reológicas

del pan al reemplazar del 10 al 30% de harina por residuos de grosella negra, observando en la masa con orujo un desarrollo restringido del gluten lo que condujo a una menor extensibilidad y volumen además de una menor fuerza de rotura después de horneado. Desde el punto de vista sensorial, estos autores observaron que hasta un 30% de RB en la masa era bien aceptado por los consumidores.

Una forma de incrementar la cantidad de antioxidantes en la matriz alimentaria es el uso de extractos de residuos de berry (ERB). En este sentido Ospina *et al.* (2019) estudiaron extractos de residuos de mora negra como agente antioxidante de emulsiones O/W encontrando que la estabilidad del aceite era superior a la obtenida con antioxidantes sintéticos. No obstante, los ERB pueden presentar astringencia y sabores amargos, además de degradarse rápidamente (Laaksonen *et al.*, 2011). A fin de superar estos inconvenientes se ha estudiado la microencapsulación de ERB para la obtención de alimentos funcionales como se verá ampliamente en este trabajo.

1.1.3 COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y PROPIEDADES QUÍMICAS DE LOS RESIDUOS DE BERRIES

Los RB generalmente poseen un contenido de antioxidantes superior al del jugo de esta fruta. Existe variada información respecto a la composición de los RB debido a los distintas tecnologías y procesos a partir de los cuales se obtienen.

Adicionalmente algunas tecnologías implican la adición de aditivos que modifican la distribución de los contenidos del jugo y la fruta y por ende de sus propiedades (Venskutonis, 2020). Por ejemplo, en el proceso de obtención de jugo, los múltiples pasos del proceso (descongelado, molienda, prensado, despectinizado, centrifugado, evaporado y pasteurizado) podrían afectar la composición del RB. Se ha reportado que la despectinización involucra calentamiento y adición de enzimas que potencialmente disminuyen el contenido de antocianinas (Hoskin *et al.*, 2019).

Los componentes de los residuos pueden ser agrupados en macro y microcomponentes, lipofílicos e hidrofílicos (Venskutonis, 2020). En el caso de los compuestos fenólicos, se ha observado que el contenido de antocianinas totales (AT) del residuo de arándano (RA) es 1,5 veces el del jugo. Una situación similar ocurre con los polifenoles totales (PT). Además se describe que los RA contienen aproximadamente el 31% de las AT y el 61% de los PT del fruto entero (Castagnini 2014). En este mismo sentido Lee *et al.* (2004) encontraron que el contenido de AT y PT, en RA vs. el fruto entero, representa 82% y 41% respectivamente. Por otra parte Ospina *et al.* (2019) analizaron moras negras y encontraron que el contenido de PT en el residuo es 10 veces más que en la fruta. Estas diferentes proporciones entre el fruto de arándano, sus subproductos, y los diferentes contenidos en peso seco de la mora y residuos de mora se visualizan en el Gráfico 3. Cada RB presenta antocianinas que lo caracterizan. Así por ejemplo la malvidina 3-O-glucósido es la antocianina más abundante en

el jugo y el ERB de arándano. Similarmente, la peonidina-3galactósido y petunidina 3,5-diglucosido fueron las antocianinas más abundantes en ERB de cranberry y uva morada respectivamente, así como también en las partículas producidas con estos extractos (Hoskin *et al.*, 2019).

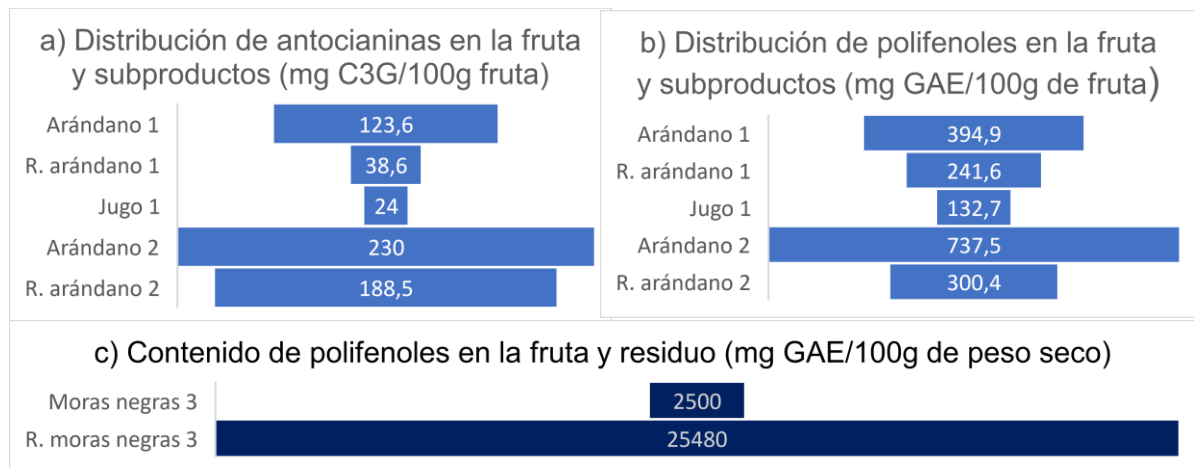


Gráfico 3 Distribución de las antocianinas y polifenoles del arándano, en el fruto y subproductos (a y b) y contenido de polifenoles en las moras y en el residuo de moras (c). 1 (Castagnini, 2014); 2 (Lee *et al.*, 2004); 3 (Ospina *et al.*, 2019). R: residuo.

En la Tabla 2 se presenta la composición de antocianinas monoméricas de los principales 10 residuos de berries. Se observa que los residuos contienen una variedad y cantidad de antocianinas considerables. Además, la composición es variable aun entre los mismos tipos de RB, lo cual se ha atribuido a diferentes factores como son: el método usado para su extracción, procedimiento de medición, zona de cosecha, época de cosecha, entre otros. Entre las antocianinas encontradas, la más común y presente en todos los RB fue la cianidina 3-glucósido (6-166 mg/100 g) y la menos común la peonidina 3-rutinosido que se encontró solo en cereza (88 mg/100g). Además de las

antocianinas, se encuentran otros antioxidantes, por ejemplo, en los extractos de residuos de arándano (ERA) se encuentra: ácido siríngico (82,1 µg GAE/g de fruto), ácido gálico (72,2 µg GAE/g de fruto), quercetina (52,3 µg GAE/g de fruto), ácido ferúlico (36,1 µg GAE/g de fruto), ácido cafeico (35,3 µg GAE/g de fruto), miricetina (34,4 µg GAE/g de fruto) y ácido p-hidroxibenzoico (30,0 µg GAE/g de fruto) (Bener et al. 2013). Los porcentajes de compuestos fenólicos presentes en la piel y residuos en general es alto por lo que aprovechar los RB podría evitar contaminación ambiental y entregar nuevas oportunidades de negocio. Para este fin se requieren aplicar diferentes estrategias de uso de residuos agrícolas para contribuir a otorgar valor agregado a esta materia prima (Santana *et al.*, 2012).

Tabla 2 Composición monomérica de antocianinas en RB (mg/100g)

	Arándano ¹	Frambuesa ¹	Grosella roja ¹	Blackberry ¹	capulín ²	Cerezas ³	Cerezas ⁴	Grosella negra ⁵	Grosella negra ⁶	Arándano rojo ⁷	Arándano silvestre ⁹	Arándano ⁷	Arándano ¹⁰	Arándano rojo de montaña ⁷
D3gal	130,1										31,41	60,1	762	17,39
D3glc	4,4					18,5- 78,3		270- 560	60- 140		39,7	81	183	7,03
D3ara	97,2											26,27	647	7,41
D3rut								390 -840	120 -220					
Cy3sph		60,5				42,8- 295								
Cy3glcrut		37,3				1191- 4422	6,0							
Cy3sam			124,3											
Cy3glc	4,89	59,5	3,58	166,4	24 -44	18,5- 78,3	28,0	70-160	20-100	6-71	49,18	57,1	86	165
Cy3rut		31,7	22	26		1185- 1657	239,0	230 -480	140 -220					
Cy3ara	14,2				370 -570					307-914	28,7	38,1	115	44,2 544
Cy3gal					760- 1250					173-981	26,5	92	156	31,44 1930
Pn3ara	11,4	2,31	9,93	25,82	818	0,31								
Pn3rut					0-88,3									
Pn3gal										304-1241	2,73	20,2	24	33
Pn3glc										36-328	20,44	42,8	158	119,22 86
Pt3ara	89,2										8,55		540	
Pt3glc											8,95	51,1	650	140,89
Pt3gal	106,8											19,7		21,11
M3glc	11,2										26,2	70	534	47,37
M3ara	355,8										6,39	14,6	1961	

Donde, s: peso seco, h: peso húmedo, ara: arabinosido, Cy: cianidina, D: delphinidina, gal: galactosido, glc: glucosido, M: malvidina, Pn: peonidina, Pt: petunidina, rut: rutinosida, xyl: xilosida. ¹ (Jara et al., 2019a); ² (Mayer-Miebach, Adamiuk, and Behsnilian 2012) h; ³ (Kolodziejczyk et al. 2013) h; ⁴ (Bajerska et al. 2016) s; ⁵ (Pap et al. 2013) h; ⁶ (Kitryté et al. 2017) s; ⁷ (Klavins et al. 2018) s; ⁸ (Bakowska et al., 2009) h; ⁹ (Aaby et al., 2013) s; ¹⁰ (Bener et al., 2013) s.

1.1.3.1 ANTOCIANINAS

Las antocianinas son de los polifenoles más abundantes en los berries, estos compuestos son los responsables de los colores púrpura, azul y rojo de muchas frutas. La estructura de la antocianina está formada por un catión aglicona

flavilium (antocianidina), su esqueleto es C6–C3–C6 que puede estar glicosilado, y los glicósidos que a su vez pueden estar acilados, formando una estructura como la que se muestra en la Fig. 5. Las estructuras de los principales ácidos orgánicos con que se puede unir la antocianina mediante la acilación se muestran en la Fig. 4 (Barnes et al. 2009) donde se observa como ácidos aromáticos y alifáticos mediante uniones en R1, R2 y/o R3 de la antocianina, dan lugar a la formación de diferentes antocianinas aciladas. Los azúcares le otorgan estabilidad y solubilidad en agua a las antocianinas (Castagnini 2014). Las principales antocianidinas formadas por adición de diferentes grupos, ya sea un hidroxilo (OH) o hidrogeno (H) o metóxido (OMe) en las posiciones R1, R2 o R3 de la estructura base, se muestran en la Tabla 3, así como también los diferentes azúcares y/o ácidos a los que se podría unir, originando las antocianinas comunes en RB.

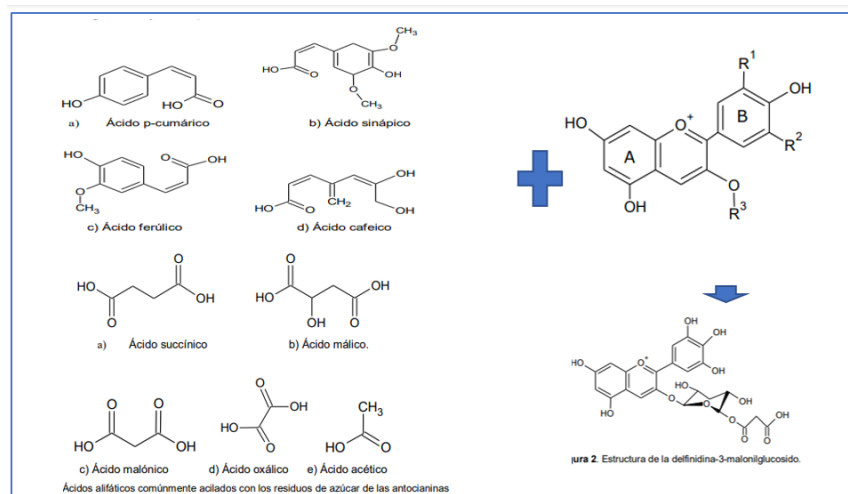


Figura 4 Acilación de antocianinas. (Barnes et al., 2009)

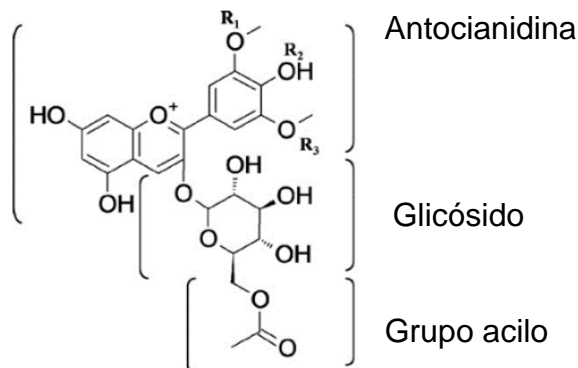


Figura 5 Esqueleto de una antocianina acilada (malvidina-3-(6-acetoilo) glucósido (Barnes et al., 2009).

Tabla 3 Antocianidinas comunes y sus sustituyentes. (Barnes et al., 2009).

Antocianidina	R1	R2	R3	Glucósido	Acilación
Delfinidina	OH	OH	OH	Galactosa;	Acetoilo;
Cianidina	OH	OH	H	sambubiosa;	malonoilo;
Petunidina	OMe	OH	OH	glucosa;	cumaroilo
Pelargonidina	H	OH	H	arabinosa;	
Peonidina	OMe	OH	H	rutinosa;	
Malvidina	OMe	OH	OMe	xilosa	

1.1.4 DETERIORO DE LOS POLIFENOLES SIN PROTECCIÓN ANTE LOS EFECTOS AMBIENTALES

Los compuestos fenólicos y en especial las antocianinas contenidas en los RB son sensibles a degradarse por factores ambientales como son: la luz, el oxígeno, la temperatura, la acidez del medio y la presencia de copigmentos en la matriz alimentaria. Estos factores tienen un efecto importante sobre la estabilidad y propiedades biológicas que cada antocianina individual pueda tener. El pH es un factor que tiene un impacto considerable en las propiedades de este grupo (Fig.

6). Las antocianinas en soluciones a un pH inferior a 2,5 se encuentran en el estado de catión flavylum, la estructura primaria y más estable del compuesto. En soluciones levemente ácidas (pH 4-6), se favorece una estructura secundaria de bases anhidras y pseudobases, causadas por el ataque nucleofílico del agua al anillo pirano. A pH básico el anillo pirano se abre creando la estructura chalcona (Barnes *et al.*, 2009; Tonon *et al.*, 2010).

Los polifenoles además pueden experimentar reacciones de oxidación al exponerse a H_2O_2 , ROO° , O_2 y OH^- . En las antocianinas la carga positiva y los grupos hidroxilo aromáticos, pueden donar protones a los radicales libres, previniendo así el daño celular, contribuyendo a la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles. Las principales reacciones que experimentan cuando son expuestos a agentes antioxidantes son transferencia del átomo de hidrógeno (eq 1) y transferencia del electrón (eq 2) (Huang *et al.*, 2005). También protegen por un mecanismo de quelación de metales de transición, como Fe^{2+} y Cu^+ (Machado *et al.* 2017).



Por lo tanto, al momento de formular un ingrediente funcional deben considerarse múltiples factores que podrían afectar la estabilidad y propiedades biológicas, tecnológicas y funcionales de este tipo de compuestos (Park *et al.*, 2011).

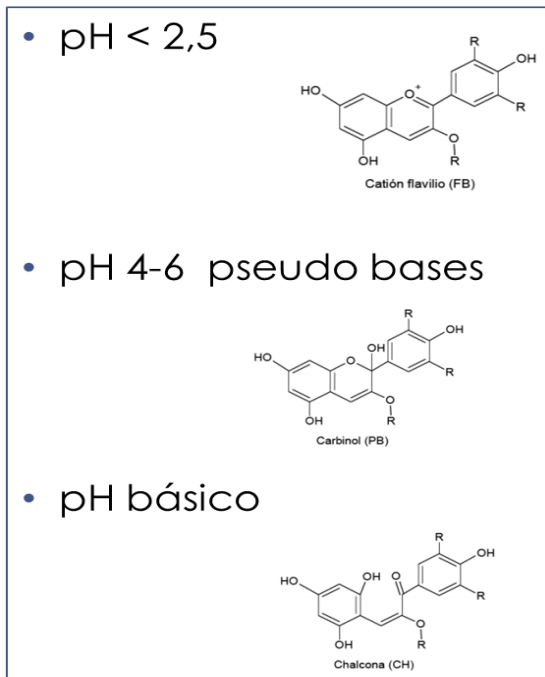


Figura 6 Efecto del pH en la estructura de la antocianina. (Barnes et al., 2009)

1.1.5 ESTUDIOS SOBRE LOS POTENCIALES EFECTOS A LA SALUD DE LOS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN RB.

Los RB al contener una cantidad de compuestos antioxidantes considerable, han sido objeto de estudio para la prevención de enfermedades relacionadas con estrés oxidativo y la inhibición de agentes patógenos. Entre los efectos que se han estudiados se encuentra la investigación de Stull *et al.* (2010), donde evaluaron el efecto de la suplementación diaria con bioactivos de arándanos (22.5 g), en personas obesas resistentes a la insulina logrando una reducción significativa ($p = 0.04$) de las concentraciones de glucosa vs. un grupo control

con placebo. Por otra parte, Neto (2007) describió que las principales acciones quimiopreventivas de las antocianinas incluyen la reducción de la proliferación celular, el aumento de la apoptosis y la detención del ciclo celular en las células tumorales y la modulación de la expresión y actividad de las metaloproteinasas de matriz unidas a metástasis. En esta misma línea Kropat *et al.* (2013) liberaron antocianinas microencapsuladas (a partir de ERB arándano silvestre), en cultivos celulares encontrando que estas disminuían considerablemente el crecimiento de HT29 (células del carcinoma de colon), así en concentraciones de 200 µg/ml, disminuían el número de células a un $72 \pm 19\%$. La eficacia de estas frutas contra el desarrollo de tumores *in vivo* depende en gran medida de la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos para los diversos tejidos. En este sentido, Bensalem *et al.* (2019) reportaron que en personas de 60-70 años (215 voluntarios, por 6 meses) suplementadas a diario con extractos de arándanos y uvas (258 mg de flavonoides), hubo una mejora significativa en la memoria verbal episódica y de reconocimiento, pero no encontraron diferencia significativa en la memoria visoespacial, concluyendo que los polifenoles tienen un efecto beneficioso sobre el deterioro cognitivo relacionado con la edad. Este efecto en la memoria ya había sido previamente estudiado en ratones con efectos similares y además se notó una mayor proporción de neuronas recién generadas, que los ratones de control de la misma edad (Bensalem *et al.* 2018). En otro ámbito, se ha descrito las propiedades antivirales de las antocianinas. Ikuta *et al.* (2013) evaluaron la acción de un extracto de arándanos al 10% sobre la inhibición de la

adsorción de 4 cepas del virus influenza (VIF) a las células MDCK (Madin-Darby canine kidney), encontrando una inhibición del 100% de la adsorción en 2 de las 4 cepas, resaltando su potencial aplicación como antiséptico. Sumado a lo anterior, Joshi *et al.* (2019) investigaron el efecto antiviral de las proantocianidinas de arándanos contra el virus Aichi (AiV) (enterovirus), mostrando que las proantocianidinas pueden disminuir la concentración de AiV para prevenir potencialmente enfermedades y brotes relacionados con este virus. En este mismo sentido, los investigadores Sun *et al.* (2018), estudiaron usando extractos de arándanos en dosis de 0,13-0,53 mg cianidina-3-galactósido/ml y comprobaron que son capaces de inhibir *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Vibrio parahemolíticus*.

En paralelo a los efectos sobre la salud, se ha utilizado diversas fuentes de antocianinas como colorantes de origen natural que reemplacen a los de naturaleza sintética. En este sentido, las antocianinas destacan por ser colorantes no tóxicos y por sus propiedades funcionales demostradas en estudios *in vitro* e *in vivo*. (Burin *et al.* 2011). Estos y otros potenciales efectos a la salud reportados en los RB (Klinger *et al.*, 2012) se muestran en la Fig. 7.

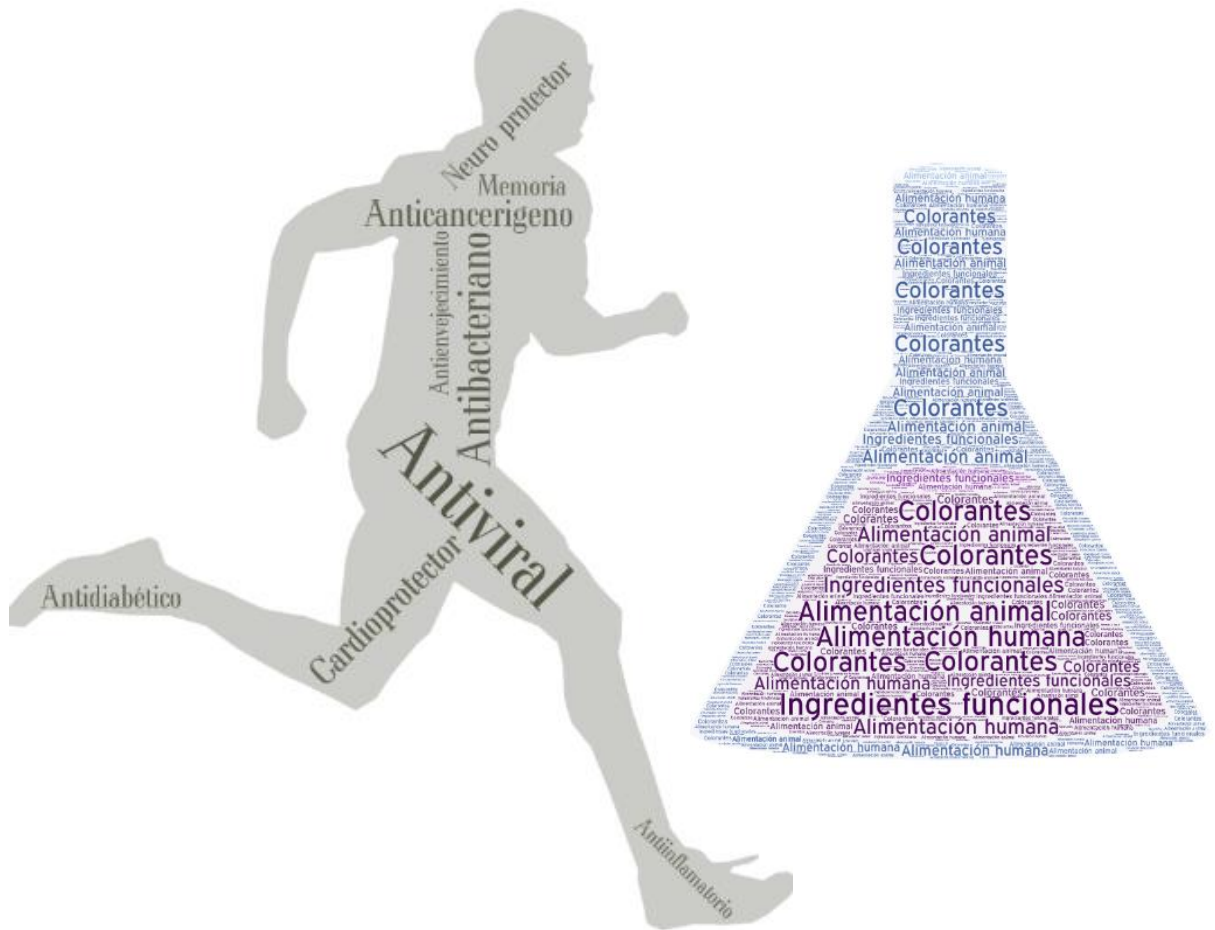


Figura 7 Potenciales efectos a la salud de los RB y sus usos en la industria (Patel, 2014); (Klinger et al., 2012)

1.2 EXTRACCIÓN DE RESIDUOS DE BERRIES

Para la obtención y uso de los polifenoles y sus propiedades, presentes en los RB, un primer paso es la extracción. Este proceso se ha llevado a cabo usualmente empleando solventes polares como metanol, etanol, agua y agua acidificada. En este tipo de extracciones predomina la obtención de antocianinas glicosiladas. La extracción convencional tiene las ventajas de permitir el uso de una variedad de solventes, en especial agua acidificada que permite obtener

altos rendimientos de extracción de antocianinas. En los últimos años se han propuesto metodologías alternativas a la convencional, a través de métodos más amigables con el medioambiente como la extracción con CO₂ supercrítico. En este caso debido a que este solvente se comporta como un solvente apolar, se combina con un cosolvente de volatilidad intermedia como el etanol para aumentar su afinidad hacia las antocianinas. De esta forma, da origen a extractos con un mayor contenido de antocianinas aciladas (Kraujalis *et al.*, 2017; Pertuzatti *et al.*, 2014; Del Valle *et al.*, 1999).

1.3 MICROENCAPSULACIÓN

Durante la formulación de un ingrediente o aditivo funcional es habitual que se extraigan las materias primas de origen vegetal para aumentar el contenido de compuestos bioactivos. En el caso de los RB, una vez que se extraen, las antocianinas podrían perder su barrera de protección natural otorgada por la matriz alimentaria, exponiéndolas a su degradación producto de factores medioambientales como temperatura, luz, oxígeno y pH, con la consecuente pérdida de sus potenciales efectos a la salud (Zardo *et al.*, 2017; Jiménez *et al.*, 2011; Lim *et al.*, 2011). Una alternativa factible de utilizar para evitar estos procesos es la microencapsulación. Esta tecnología consiste en el recubrimiento de un gas, líquido o sustancia sólida (núcleo o activo) con un biopolímero o material secundario (matriz o encapsulante) formando partículas en el rango de

0,5 μm a 200 μm . Además, permitiría la entrega y liberación controlada del activo en un lugar específico (sistema digestivo o en el propio alimento) a una velocidad específica. Por este motivo, es frecuente usar esta tecnología para la formulación de alimentos funcionales (Aghbashlo et al., 2015).

1.3.1 TECNOLOGÍAS DE MICROENCAPSULACIÓN

Existen variadas tecnologías de microencapsulación posibles de utilizar durante el desarrollo de un aditivo funcional. La selección del método depende principalmente de las propiedades del activo y el encapsulante. En este sentido, la solubilidad, la afinidad por la interfaz, la resistencia del activo a su degradación causada por factores ambientales y las interacciones entre el activo y el encapsulante son factores claves a considerar en este proceso. Junto a lo anterior, la selección del método debe considerar un criterio económico, que incluya la evaluación de la huella ambiental y el costo de las materias primas, materiales y del proceso en sí (Aghbashlo et al., 2015). Según la naturaleza de las metodologías de encapsulación es posible clasificarlas en 3 grupos: (1) métodos físicos como secado por atomización (SA), secado por liofilización (SL), precipitación de fluido supercrítico y evaporación del solvente. (2) Métodos fisicoquímicos como coacervación y gelificación iónica y (3) métodos químicos como la polimerización interfacial y la formación de complejos de inclusión molecular (Ozkan et al., 2019). En este trabajo se revisarán los métodos más usados para microencapsular RB.

1.4 ESTABILIDAD Y APLICACIONES EN ALIMENTOS

Para lograr preservar las propiedades de las micropartículas con antocianinas de RB se debe entender los procesos de degradación que experimentan durante su almacenamiento. Los alimentos son sistemas inestables desde el punto de vista termodinámico, su estabilidad normalmente se determina por la velocidad en que un reactante o producto experimenta un cambio químico. Esta puede ser determinada experimentalmente, siguiendo el cambio de concentración de éstos en función del tiempo (Van Boekel, 2008).

Una forma de evaluar la funcionalidad de las antocianinas es estudiando su comportamiento en la matriz alimentaria. En este sentido se han realizado estudios de productos desarrollados a partir de ERB, entre los cuales está, la investigación realizada por Guijarro *et al.* (2019) donde se evaluó la bioaccesibilidad de los antioxidantes del arándano en la elaboración de pan (110°C por 30 minutos), antes y después de la digestión, encontrando que la capacidad antioxidante del pan de arándano horneado fue del 94.9% con respecto al fruto fresco, muy superior al del pan control (sin arándano) que fue de 54.2%. Esto coincide con otros estudios similares que muestran una retención de al menos un 50% de las antocianinas después del horneado (Claudio *et al.*, 2012). Por otra parte, el tránsito de las antocianinas a través del sistema digestivo podría causar una disminución considerable en su bioaccesibilidad. Así en el ejemplo del pan con arándano, se encontró una actividad antioxidante de 37 μM

Trolox/g en la digestión gástrica y en la etapa duodenal de 10,6 μ M Trolox/g, reteniéndose un 28,6% de la actividad antioxidante, indicando que el proceso digestivo disminuyó el efecto protector que otorga el gluten sobre los compuestos antioxidantes (Guijarro *et al.*, 2019). Dada la inestabilidad de los compuestos antioxidantes se requiere de métodos de preservación. Los métodos de encapsulación ayudan a mejorar la estabilidad de un compuesto en una matriz alimentaria y su vida media en condiciones óptimas de almacenamiento (Robert *et al.*, 2015). La aplicación de este tipo de tecnologías de encapsulación para la estabilización de RB y su aplicación en matrices alimentarias es cada vez más reconocido y demandado en una sociedad que valora la salud y el cuidado del medioambiente. Por lo tanto, se espera que esta tesis contribuya a generar información relevante para la selección de tecnologías e ingredientes obtenidos a partir de residuos agroindustriales y su estabilización, con el fin de otorgar valor agregado a materias primas emergentes a nivel nacional.

2. APORTE DE CONOCIMIENTO

Esta tesis presenta un marco teórico actualizado y sistematizado de las principales variables y resultados de los estudios de microencapsulación de extractos de polifenoles a partir de residuos de berries. Este estudio será útil como guía o herramienta de decisión para futuras investigaciones en materias primas emergentes de residuos de berries y en la selección de tecnologías de encapsulación de compuestos bioactivos, ya que estos residuos actualmente representan un problema medioambiental. Es importante el aprovechamiento de estos residuos agroindustriales de berries dada su alta concentración de polifenoles, que podrían ayudar en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Estos compuestos son de creciente demanda, para la producción de alimentos funcionales.

Se espera que esta tesis contribuya a generar información relevante para la selección de tecnologías e ingredientes obtenidos a partir de residuos agroindustriales y su estabilización, con el fin de otorgar valor agregado a materias primas emergentes a nivel nacional.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Realizar una revisión de los más recientes avances en tecnologías de encapsulación de antocianinas provenientes de residuos agroindustriales de berries.

3.2 Objetivos específicos

1. Revisión del estado del arte de las tecnologías de extracción de antocianinas provenientes de residuos de berries.
2. Revisión del estado del arte de los métodos más frecuentes y/o emergentes en la microencapsulación de antocianinas provenientes de residuos de berries.
3. Revisión del estado del arte de las aplicaciones en alimentos de antocianinas provenientes de residuos de berries como ingredientes y/o alimentos funcionales.

4. METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda bibliográfica a través de los principales buscadores de literatura científica como son: Science direct, Researchgate, Springerlink, Web of Science, Google Scholar, Scopus, y Pubmed, complementado con referencias de los diferentes artículos científicos relacionados al tema, registros de ministerios de Chile e internacionales y asociaciones gremiales. Todo esto a fin de extraer la información más reciente sobre microencapsulación de residuos de berries y poder hacer un análisis de los principales hallazgos. La búsqueda se realizó en un periodo de tiempo del 2011-2021. El proceso de desarrollo de objetivos se muestra en la Figura 8. Para la presentación de los resultados se utilizaron variados tipos de gráficos como:

- Diagramas aluviales: Diagrama de impacto que muestra cambios entre grupos y atributos múltiples. Un tipo especial es el de Sankey que muestran los flujos de volumen en forma proporcional. La anchura de las flechas o líneas se utiliza para mostrar sus magnitudes.
- Diagrama de burbujas: es un gráfico de múltiples variables que supone un cruce entre un diagrama de dispersión y un gráfico de área proporcional.
- Gráfico de columnas: utiliza barras horizontales o verticales para mostrar comparaciones numéricas que de diferentes categorías. Uno de los ejes de la gráfica muestra las categorías específicas que se comparan y el otro eje representa una escala de valores.

- Gráfico de torta: muestra las proporciones y porcentajes entre las categorías al dividir un círculo en segmentos proporcionales. Cada longitud de arco representa una proporción de cada categoría, mientras que el círculo completo representa la suma total de todos los datos, igual a 100%.

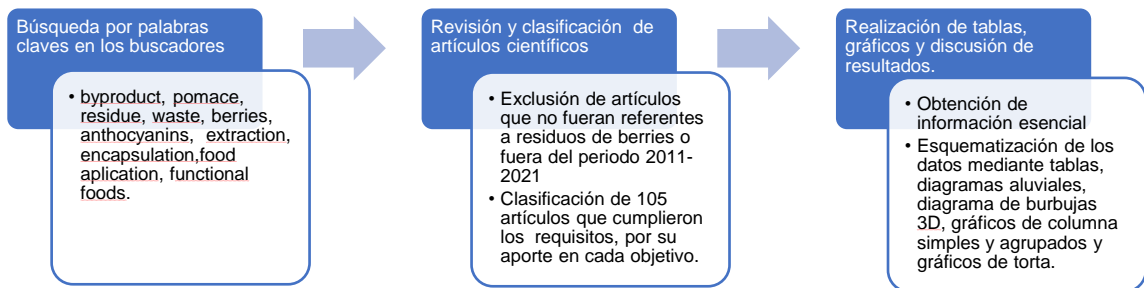


Figura 8 Proceso para el desarrollo de los objetivos específicos

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE RB

Los polifenoles presentes en residuos de berries pueden proporcionar múltiples beneficios a la salud. Un primer paso para su utilización es la extracción de estos compuestos para posteriormente conservarlos con tecnologías como la encapsulación. Previo a la extracción los residuos deben pasar por un proceso de secado, por métodos como liofilización preferentemente por conservar mejor los componentes, u otros como en horno, luego pasa a la molienda por ejemplo, en molino de martillos (30-40 mesh), a fin de reducir la resistencia a la transferencia de masa durante la extracción y finalmente se congela, por ejemplo a -18°C hasta ser extraído (Paes *et al.*, 2013). Entre los métodos de extracción de compuestos fenólicos a partir de RB, están los de tecnologías convencionales y los de tecnologías alternativas. Entre los primeros están: extracción convencional con solvente (ECS) la extracción soxhlet, maceración, infusión, y destilación de vapor. Entre las tecnologías alternativas: la extracción con fluidos supercríticos (EFS), con liquido presurizado (ELP) llamado también extracción acelerada con solvente (ASE) y combinadas con extracción asistida por ultrasonido (EAU) como fluido presurizado asistido por ultrasonido (EFP+EAU) (Paes *et al.*, 2013). Luego de la extracción, generalmente se mide el contenido

de polifenoles y antocianinas totales, a continuación, se revisa en más detalle este tipo de estudios.

5.1.1 MÉTODOS CONVENCIONALES

La extracción convencional se realiza generalmente con agua y solventes orgánicos como etanol y metanol. Además, permite el uso de ácidos para la extracción. El grado de extracción depende de: la razón solvente: muestra, tipo de solvente y de ácido, pH, tamaño de partícula, tiempo y temperatura (Zardo et al., 2017). Entre las ventajas de la extracción convencional están; el bajo costo de procesamiento y fácil de operar (Easmin et al., 2015). Algunas de las desventajas son: largos tiempos de proceso, alto consumo de energía y solventes, calidad del extracto limitada, posible degradación de compuestos por los tiempos y temperaturas usadas, dificultad para remover el solvente completamente (Machado et al., 2017; Easmin et al., 2015). Ejemplos de estos estudios, de obtención de extractos fenólicos a partir de RB, se presentan en la tabla 4, donde se puede observar que los contenidos varían inclusive dentro del mismo grupo de RB, esto podría ser debido a las características propias del RB utilizado (grado de madurez de la fruta, variedad de berries y las condiciones de cultivo), los tratamientos previos a los que son sometidos los RB y las condiciones de extracción, entre otros (Vulić et al., 2011). Por otra parte, influye la tecnología usada como se muestra en los diferentes estudios. Además, los investigadores

usan diferentes unidades y formas para expresar los resultados, por ejemplo, en función del residuo o en función del extracto, en base seca o húmeda. Aunque, la forma más usual es en función del residuo en base seca. Todo esto hace compleja una comparación directa entre los diferentes estudios. En los estudios de la Tabla 4 se encontraron rangos de PT y AT en ERB entre 198-26650 mg GAE /100 g base seca y 34-2900 mg C3G /100g base seca respectivamente. Usando como solventes etanol (50-90%) metanol (75-80%) y agua acidificada con ácido cítrico, acético o clorhídrico, temperaturas entre 25 y 80°C y tiempos de 5 min a 24h. observándose que el solvente más usado es el etanol. Por otra parte al comparar entre los diferentes métodos convencionales el mayor contenido de polifenoles se logra por el método por extracción con solvente (con agitación) y el menor mediante la extracción soxhlet (Santos *et al.*, 2013). Entre los compuestos fenólicos presentes en RB, destacan como mayor grupo las antocianinas, la relación entre estas y las variables de proceso (solvente, tiempo y temperatura) se muestra en el Grafico 4. Los mayores de contenidos de AT se obtuvieron a 80°C, < 2h y en presencia de etanol (50%) o agua acidificada. Se menciona que al aumentar la temperatura de extracción se incrementa la

extracción de polifenoles y antocianinas (Bonfigli et al., 2017; Leichtweis et al., 2019).

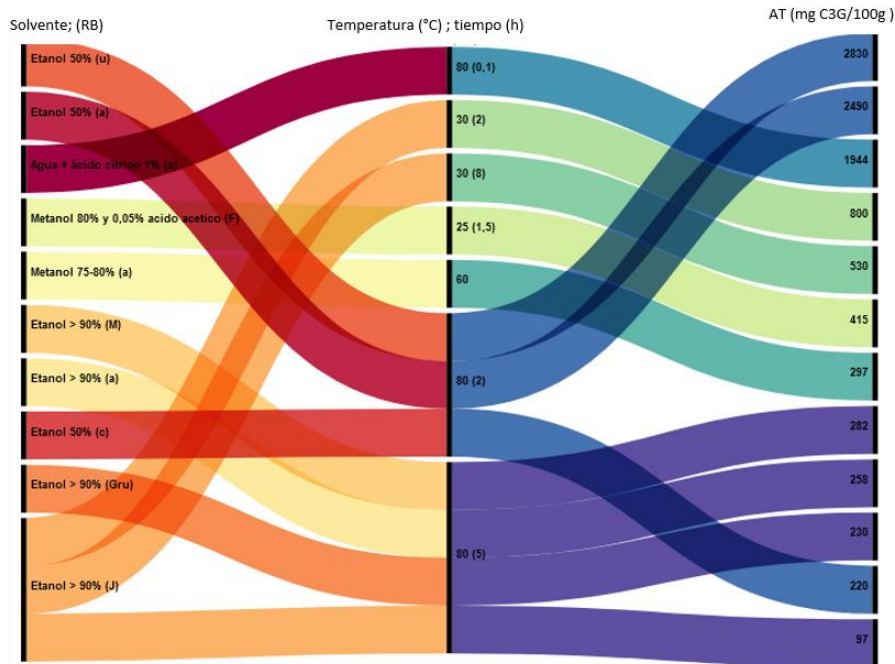


Gráfico 4 Relación entre las variables de extracción; tipo de solvente, temperatura y tiempo de proceso con las antocianinas totales. a: arándano, u: uva, c: cranberry, f: fresa gro: grosella, fra:Frambuesa, m: moras, gru: grumixama, j: jambul. (Santos et al., 2013); (Tumbas et al., 2015); (Hoskin, et al., 2019); (Laaksonen et al., 2011); (Zardo et al., 2017); (Lu et al., 2020); (Machado et al., 2018); (Oancea et al., 2018).

Tabla 4 Estudios de extracción de antocianinas con métodos convencionales a partir de residuos de berries.

Referencia	Tipo de Berry	Método de extracción	Solventes	Condiciones	Polifenoles totales	Antocianinas totales
Lu et al., 2020	Arándano	ECS	Etanol (80 %); pH 2	60 °C		297 *
Leichtweis et al., 2019	Endrina		Etanol 50%	49 min; 90°C		793 ¹
(Jara-Palacios et al. 2019)	Frambuesa roja		Metanol 75%; 1N HCl (1%)	T: 25°C t: 12h	2015 ⁴	189 ¹
	Grosella roja				3447 ⁴	150 ¹
	Moras				1699 ⁴	192 ¹
	Arándano				1955 ⁴	1188 ¹
Hoskin, et al., 2019	Arándano		Etanol al 50%	80 °C; 2h	10810 ⁴	2490 *
	Cranberry				9140 ⁴	220 *
	Uva morada				26650 ⁴	2830 *

Oancea <i>et al.</i> , 2018	Guindas		Etanol al 70%		198 ⁴	33,56 *
Machado <i>et al.</i> , 2017	Moras		Etanol	80°C, 5h	784 ⁴	282 *
	Grumixama				944 ⁴	97 *
	Arándano				683 ⁴	258 *
Zardo <i>et al.</i> , 2017	Arándano		Agua + ácido cítrico 1% m/v	80°C 5 min	3698 ⁴ 795 ⁵	1944 *
Bonfigli <i>et al.</i> , 2017	Uva		Etanol 50%	25-65°C; 30min		37,3-47,5 ²
Tumbas <i>et al.</i> , 2015	Fresa		Metanol 80%	90 min	4073-4156 ⁴ 313-320 ⁶	367-442* 28-34 **
Pasquel <i>et al.</i> , 2014	Moras		Etanol	T: 50 °C	425 ⁵	484 ³
	Moras	Maceración	Etanol	T 25 °C; 24h	595 ⁵	13 ³
Santos <i>et al.</i> , 2013	Jambul		Etanol 99,5%	150rpm; 2h; 30°C	800 ⁴	800*
		Soxhlet		8h; 78°C	820 ⁴	530*
			Etanol 99,5%; pH3		780 ⁴	230*
Laaksonen <i>et al.</i> , 2011	Baya de cuervo		Etanol al 90%			2900 *
Vulić <i>et al.</i> , 2011	Arándano		Metanol 80%	120 min	1116 ⁶	1279 **
	Moras		ácido acético 0,05%		804 ⁶	149**
	Fresa				488 ⁶	20**
	Frambuesa				638 ⁶	65**

*mg C3G /100g base seca; ** mg C3G /100g base húmeda; C3G: Equivalente a cianidina-3- glucósido; ¹mg antocianinas /100 g base seca; ² mg antocianinas /100 ml extracto; ³ mg C3G /100 g extracto; ⁴ mg GAE /100 g base seca; ⁵ mg GAE /100 g extracto; ⁶ mg GAE /100 g base húmeda.

5.1.2 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es un método rápido y eficiente para la extracción de polifenoles basado en la cavitación producida por ultrasonido. Esta consiste en la formación, crecimiento y colapso de microburbujas en la superficie sólida, lo que conlleva a su corrosión, erosión y finalmente a la ruptura de la pared celular, lo que permite la penetración del solvente en el sólido, facilitando el transporte de masa. Adicionalmente el ultrasonido puede ayudar a liberar el material intracelular y liberar los compuestos de la superficie sólida y

finalmente las altas temperaturas en la zona de colapso mejoran la solubilidad de los compuestos (Machado *et al.*, 2017; Bonfigli *et al.*, 2017). Estos tipos de extracción generalmente se realizan en combinación con otros métodos ya que incrementan la extracción de compuestos fenólicos y disminuyen los tiempos de proceso. Entre otras ventajas es fácil de usar, bajo costo, extracción de polifenoles más selectiva que ECS, mejora la transferencia de masa, la penetración del solvente y la productividad, menor consumo de solvente, menor riesgo físico y químico, más amigable con el medio ambiente y permite extracciones a menor temperaturas (Leichtweis *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2013; Easmin *et al.*, 2015). Las desventajas son que requiere filtración y no es adecuada para compuestos inestables (Easmin *et al.*, 2015). La extracción de polifenoles con este método dependerá de varios factores entre ellos la frecuencia y la intensidad del ultrasonido y las características de la muestra (Santos *et al.*, 2013). Por ejemplo Bonfigli *et al.* (2017) encontraron que a los 30 minutos de proceso obtuvieron por ECS el 80% de las antocianinas y por EAU el 90% y un incremento en el rendimiento de 5%. Así mismo Leichtweis *et al.* (2019) encontraron que al comparar EAU con ECS se redujo el tiempo de extracción en aprox. 90%, lo que redundó en menor consumo de energía y un aumento del 18% en la eficiencia de extracción. Estudios de EAU se muestran en la tabla 5, donde se puede observar en los parámetros de proceso, que la frecuencia generalmente usada es de 40kHz la potencia varía entre 81 y 580W, la temperatura entre 30 y 80°C y el tiempo entre 5 y 120 min, obteniendo extractos de RB con contenidos

de polifenoles (208-1543 mg GAE /100 g base seca) y antocianinas (10-1210 mg C3G /100g base seca) variados.

Tabla 5 Estudios de extracción de antocianinas asistido por ultrasonido a partir de residuos de berries.

Referencia	Tipo de Berry	Solventes	Condiciones	Polifenoles totales	Antocianinas totales
Constantin <i>et al.</i> , 2021	Uva	Etanol 70%	40 °C; 100W; 40KHz; 30 min;	16968 ⁴	2090*
Leichtweis <i>et al.</i> , 2019	Endrina	Etanol 50%	400W; 40kHz; 5 min		1176 ¹
Machado <i>et al.</i> , 2017	Moras	Etanol (50-70%)	80°C; 580W; 37kHz; 90 min	528-586 ⁴	237-238 *
		Agua pH 2		208 ⁴	126*
	Grumixama	Etanol (50-70%)		868-895 ⁴	74-87 *
		Agua pH 2		226 ⁴	10*
	Arándano	Etanol (50-70%)		440-575 ⁴	207-233 *
		Agua pH 2		247 ⁴	136*
Bonfigli <i>et al.</i> , 2017	Uva	Etanol (50%)	25-65°C; 160W; 40 kHz; 30min		38,6-47,9 ²
He <i>et al.</i> , 2016	Uva	Etanol (70%); HCl 0,01%	60°C; 400W; 25min	1543 ⁴	411*
T. Santos <i>et al.</i> , 2013	Jambul	Etanol 99,5%	30°C; 81W; 40kHz; 2h	820 ⁴	940*
			30°C; 150rpm; 81W; 40kHz; 10 min	1230 ⁴	1210*

*mg C3G /100g base seca; ** mg C3G /100g base húmeda; C3G: Equivalente a cianidina-3- glucósido; ¹mg antocianinas /100 g base seca; ² mg antocianinas /100 ml extracto; ³ mg C3G /100 g extracto; ⁴ mg GAE /100 g base seca; ⁵ mg GAE /100 g extracto; ⁶ mg GAE /100 g base húmeda.

5.1.3 EXTRACCIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

La extracción por fluidos supercríticos (EFS) es otra tecnología de extracción que está ganando preferencia en la industria de alimentos debido a que es amigable con el medio ambiente, bajo consumo de solventes, no tóxicos, no deja residuos de solventes orgánicos, es segura, simple y se puede monitorear la composición a través de un proceso selectivo, además es rápida, no requiere filtración, con altos rendimientos, menor consumo de energía y reduce el efecto de degradación

térmica. Las desventajas son: muchos parámetros que optimizar, alta inversión, dificultad para extraer solventes polares sin coadyuvantes y en comparación con otros métodos presenta baja concentración de solutos (Paes *et al.*, 2013; Easmin *et al.*, 2015; Del Valle *et al.*, 1999).

La EFS es un proceso de separación que se puede considerar una forma de destilación a alta presión, basada en las diferentes presiones de vapor de los solutos, aprovechando el poder solvente de los fluidos supercríticos (condiciones por encima de su temperatura y presión crítica). Con ventajas de gran volatilidad y buenas propiedades de transporte, por su alta difusividad y baja viscosidad, es un proceso rápido. Además, dado que la solubilidad es directamente proporcional a la densidad, al modificar las condiciones bajo la presión crítica, varía grandemente la solubilidad del soluto. Entre los compuestos usados están el hexafluoruro de azufre y los hidrocarburos halogenados, pero son muy caros y los segundos además contaminantes, otros como el dióxido de nitrógeno y los hidrocarburos son inestables. El CO₂ es el solvente más usado por superar esas desventajas, además de que se puede obtener en grandes cantidades, con alta pureza y porque permite temperaturas moderadas y extracción selectiva de constituyentes minoritarios de compuestos naturales, como por ejemplo de aceites esenciales, principios pungentes, pigmentos carotenoides, agentes antioxidantes, agentes antimicrobianos desde especias, hierbas, berries y otras materias primas (Del Valle *et al.*, 1999). El proceso de extracción se puede ver

en la figura 8, donde la fase cargada se separa y se divide en dos corrientes, una rica en soluto y otra en disolvente que se recicla.

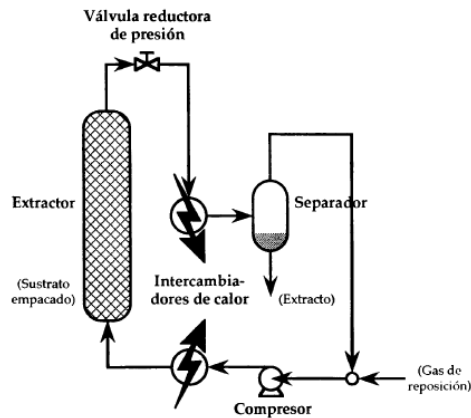


Figura 9 Proceso típico de extracción con fluido supercrítico (Del Valle et al., 1999).

En la EFS la extracción se logra generalmente bajando la presión, hasta lograr una separación adecuada. Además permiten el uso de cosolventes, así por ejemplo Pasquel et al. (2014) observaron que los cosolventes mejoran notablemente la extracción de polifenoles. Estudios de este tipo de extracción se muestran en la Tabla 6. Para la extracción de RB con CO₂ las variables de proceso son temperaturas generalmente entre 40 y 60°C y presiones entre 15 y 20 Mpa.

Tabla 6 Estudios de extracción de antocianinas con el método de fluidos supercríticos a partir de residuos de berries.

Referencia	Tipo de Berry	Método de extracción	Solventes	Condiciones	Polifenoles totales	Antocianinas totales
Pasquel et al., 2014	Moras	FS	CO ₂	20 MPa, 60 °C	444 ⁵	
		FS + ultrasonido	CO ₂ :etanol (95:5-90:10)	15 MPa, 60 °C y 200W	437 ⁵	
					651-1273 ⁵	45-220 ³

Paes <i>et al.</i> , 2013	Arándano	FS	CO ₂	40°C, 3 L/min, 20 MPa	5615 ⁶	1086 ^{**}
			Agua pH 2		617 ⁴	149 [*]
			CO ₂ :agua (95:5-90:10)		3305-4936 ⁵	513-1366 ³

*mg C3G /100g base seca; ** mg C3G /100g base húmeda; C3G: Equivalente a cianidina-3- glucósido; ¹mg antocianinas /100 g base seca; ² mg antocianinas /100 ml extracto; ³ mg C3G /100 g extracto; ⁴ mg GAE /100 g base seca; ⁵ mg GAE /100 g extracto; ⁶ mg GAE /100 g base húmeda.

5.1.4 EXTRACCIÓN POR LÍQUIDO PRESURIZADO (ELP)

La ELP o ASE es otro método alternativo de tecnologías limpias, utiliza el agua como solvente, que es no tóxica, no inflamable y de bajo costo. Además, permite ajustar los parámetros de presión y temperatura, para una mejor selectividad de los grupos de compuestos a extraer. El proceso es rápido, en ambiente cerrado e inerte. Estas condiciones favorecen la solución del analito en el solvente y la liberación de la matriz sólida (Paes *et al.*, 2013). El uso de altas temperaturas puede incrementar la solubilidad de los compuestos, romper los enlaces incrementar la difusión y reducir la viscosidad del solvente y la tensión interfacial con una mejora en la transferencia de masa. Las altas presiones incrementan la penetración del solvente en el sólido y permiten que se mantengan en estado líquido los solventes por encima de su temperatura de ebullición (Machado *et al.*, 2017). Las desventajas son: su alto costo, presenta baja concentración de solutos y no es adecuada para compuestos termolábiles (Easmin *et al.*, 2015; Del Valle *et al.*, 1999). Estudios sobre estos métodos se presentan en la Tabla 7. Se realizan generalmente con agua y etanol como solvente, temperaturas entre 40

y 80°C y presiones entre 10 y 40 Mpa. Obteniendo contenidos de PT entre 330 y 10,171 mg GAE /100 g y de AT entre 10 y 2797 mg C3G /100g.

Tabla 7 Estudios de extracción de antocianinas con el método de líquido presurizado a partir de residuos de berries.

Referencia	Tipo de Berry	Método de extracción	Solventes	Condiciones	Polifenoles totales	Antocianinas totales
Haining <i>et al.</i> , 2017	Arándano	ELP	Etanol 60%	40 Mpa		109 **
Machado <i>et al.</i> , 2017	Moras	ELP	Etanol (50-70%)	80°C, 10Mpa, 30 min	663-715 ⁴	163-172 *
			Agua pH 2		617 ⁴	149*
		EAU + ELP	Etanol (50-70%)	80°C, 580W, 8 min + 80°C, 10Mpa, 30 min	833-884 ⁴	182-200 *
			Agua pH 2		355 ⁴	102*
	Grumixama	ELP	Etanol (50-70%)	80°C, 10Mpa, 30 min	1089-1189 ⁴	20-44 *
			Agua pH 2		544 ⁴	34*
		EAU + ELP	Etanol (50-70%)	80°C, 580W, 8 min + 80°C, 10Mpa, 30 min	1043-1478 ⁴	46-63 *
			Agua pH 2		252 ⁴	10*
	Arándano	ELP	Etanol (50-70%)	80°C, 10Mpa, 30 min	538-692 ⁴	132-169 *
			Agua pH 2		474 ⁴	137*
EAU + ELP		Etanol (50-70%)	80°C, 580W, 8 min + 80°C, 10Mpa, 30 min	672-854 ⁴	188-215 *	
		Agua pH 2		330 ⁴	107*	
Avram <i>et al.</i> , 2017		ELP				61 ²
Paes <i>et al.</i> , 2013		ELP	Etanol (100 a 50%)	T 40°C y 20MPa	10,171-9933 ⁴	1870 -1895 *
			Etanol (0 a 50%); pH 2		8736-8982 ⁶	1002-1127 **
					6437-8386 ⁴	2379 -2797*
					8058-7323 ⁶	2220 -2621**

*mg C3G /100g base seca; ** mg C3G /100g base húmeda; C3G: Equivalente a cianidina-3- glucósido; ¹mg antocianinas /100 g base seca; ² mg antocianinas /100 ml extracto; ³ mg C3G /100 g extracto; ⁴ mg GAE /100 g base seca; ⁵ mg GAE /100 g extracto; ⁶ mg GAE /100 g base húmeda

La selección del método de extracción es importante y dependerá de factores tecnológicos y económicos, por lo que es de importancia revisar las ventajas y desventajas de cada uno de ellos y la factibilidad que se tenga de implementarlo.

En este sentido se muestra la siguiente tabla comparativa que resume las principales características de los métodos de extracción ya revisados (Tabla 8)

Tabla 8 Comparación entre las diferentes metodologías de extracción de RB.

CARACTERÍSTICA	ECS	EAU	EFS	ELP
COSTO DE PROCESAMIENTO / INVERSIÓN	bajo	bajo	alto	alto
TIEMPO DE PROCESO	alto	menor	bajo	bajo
TEMPERATURA DE PROCESO	alto	menor	bajo	alta
DIFICULTAD DE OPERACIÓN	fácil	fácil	alta	media
CONSUMOS DE ENERGÍA	alto	menor	bajo	media
CONSUMOS DE SOLVENTES	alto	menor	bajo	bajo
SELECTIVIDAD	menor	mayor	alta	alta
DEGRADACIÓN DE CB	posible	posible	baja	posible
ELIMINACIÓN DE SOLVENTES	difícil	Nd	si	si
TRANSPORTE DE MASA / EXTRACCIÓN DE CB	medio	mayor	alto	alto
AMIGABLE MEDIO AMBIENTE	no	si	si	si
RIESGO/ TOXICIDAD	posible	menor	bajo	bajo

5.2 MICROENCAPSULACIÓN

La obtención de antioxidantes naturales a partir de ERB es una buena opción por su bajo costo en comparación con los sintéticos. Los ERB son ricos en

polifenoles, especialmente antocianinas, que le otorgan las propiedades biológicas y sus efectos en la salud (Constantin et al., 2021). Pero una vez obtenidos, debido a que los polifenoles a partir de ERB son sensibles a la luz, temperatura y oxígeno, entre otros, se hace necesario protegerlos. Una vez extraídos y caracterizados los compuestos un segundo paso es la estabilización con tecnologías como la encapsulación, que facilita mantener su estabilidad química y mejorar su vida útil, además es una tecnología en crecimiento, altamente especializada y con precios accesibles (Santos et al., 2013). En microencapsulación las variables de respuesta generalmente estudiadas son contenidos de AT, PT y AA. El contenido de polifenoles encapsulados está relacionado con las variables de proceso y formulación durante la encapsulación, además de la composición del extracto utilizado, a fin de considerar este contenido inicial, los estudios miden también los resultados en términos de retención del activo en las MCPs después de encapsular, en relación a antes de encapsular (ERB). Los polifenoles están directamente relacionados con la AA, así por ejemplo Hoskin *et al.* (2019) encontraron que una alta concentración de compuestos fenólicos, antocianinas y proantocianidinas, conllevan a una mayor capacidad antioxidante y al correlacionar el DPPH con PT, AT y proantocianidinas ($p < 0.001$) obtuvieron $r = 0.97$, $r = 0.72$, y $r = 0.76$, respectivamente.

La protección de los polifenoles extraídos es un paso indispensable en el desarrollo de ingredientes funcionales. La encapsulación es una metodología

muy efectiva para ERB. Por ejemplo, Hoskin *et al.* (2019) revisaron el cambio de color en la microencapsulación de jugo y ERB (arándano, uva morada y cranberry) encontrando que independientemente del encapsulante, el color de los polvos obtenidos, eran más intensos para los obtenidos a partir de ERB que para los obtenidos de jugos, lo que implica una mayor concentración de antocianinas para partículas a partir de ERB. Esto se podría explicar por el menor contenido de azúcar en ERB que contribuyó a una mejor interacción de la proteína con la antocianina y así a una mayor carga en las micropartículas.

5.2.1 AGENTES ENCAPSULANTES

La selección del agente encapsulante es una de las variables más importantes en microencapsulación, su función es actuar como una barrera de permeabilidad física para el oxígeno y otros compuestos, prolongando así la vida útil de los polifenoles encapsulados (Mourtzinou *et al.*, 2019). Los encapsulantes corresponden a una variable de formulación y se debe considerar tanto el tipo, como la cantidad de agente encapsulante a usar. Para la encapsulación de ERB por SA o SL (metodologías más usadas), los tipos de encapsulantes usados son: polisacáridos (goma arábica (Ga), goma guar (Gg), ciclodextrina, maltodextrina (Md) y almidón modificado), proteínas (aislado de proteína de trigo (Ap trigo), aislado de proteína de soya (Ap soya), gelatina y caseinato de sodio) y otros como el quitosano (Lee *et al.*, 2014). Pueden utilizarse varios tipos de encapsulantes y es importante observar algunas de sus características tales

como su capacidad para formar películas, biodegradabilidad, resistencia al tracto gastrointestinal, viscosidad, contenido de sólidos, higroscopicidad y costo (Kuck *et al.*, 2016).

5.2.1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS AGENTES ENCAPSULANTES MÁS USADOS.

Entre los agentes encapsulantes destaca el uso de Md, encapsulante comúnmente utilizado en la industria de alimentos, por tener sabor suave, ser soluble en agua y ser buen protector de la oxidación, mediante la formación de matrices amorfas durante el proceso de encapsulación. Pero carece de capacidad emulsificante, por lo que comúnmente se mezcla con biopolímeros tensoactivos, como almidones esterificados, Ga, proteínas entre otros (Mourtzinis *et al.*, 2019). Además, son de bajo costo, poseen buena digestibilidad y baja viscosidad en solución. Se obtienen por hidrólisis parcial del almidón y usualmente se clasifican por su grado de hidrólisis, expresado como equivalente de dextrosa (DE), por lo que su valor está relacionado con su peso molecular. Su estructura química (Fig. 9) está conformada por unidades D-glucosa unido principalmente por enlaces α (1-4) y ramificaciones unidas por enlaces α (1-6) (Di Battista 2016).

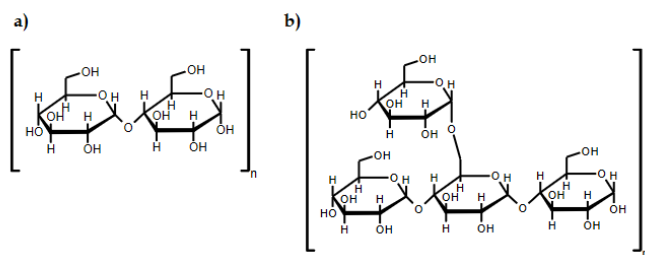


Figura 10 Estructura química de la maltodextrina a) cadena lineal (2 unidades de glucopiranososa) b) con ramificaciones (Di Battista, 2016).

La Ga, es usada por ser soluble en agua, baja viscosidad y propiedades emulsificantes, pero está siendo sustituida por su alto costo (Kuck *et al.*, 2016; Rezende *et al.*, 2018). Además, es natural (un exudado de acacias) y no tóxica. Químicamente, es un complejo formado principalmente de polisacáridos de alto peso molecular (380 - 850 kDa), altamente ramificado, formados por arabinosa, galactosa, ramnosa, ácido glucurónico y ácido 4-O-metilglucurónico (sus estructuras se muestran en la Fig. 10), además por sales de calcio, magnesio y potasio y algunas proteínas (Di Battista, 2016).

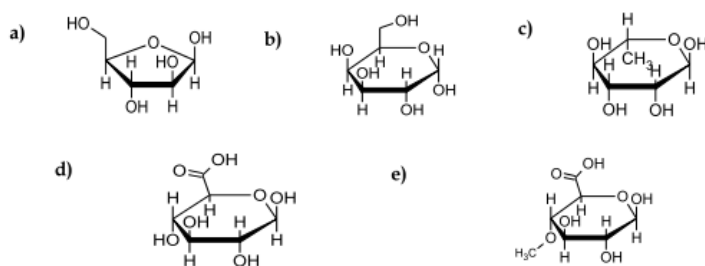


Figura 11: Unidades de azúcar de la goma arábiga. a) arabinosa; b) galactosa; c) ramnosa; d) ácido glucurónico; e) ácido 4-O-metilglucurónico (Di Battista, 2016).

La Gg presenta las ventajas de ser incolora, inodora, de baja viscosidad y muy soluble en agua (Kuck *et al.*, 2016). Es insoluble en hidrocarburos, grasas,

alcoholes, ésteres y cetonas. Comúnmente usada por sus propiedades espesantes y bajo costo. Se obtiene a partir del endospermo de las semillas de *Cyamopsis tetragonolobus*. Su estructura (Fig. 11) consta principalmente de cadenas lineales de (1-4) β -D-manopiranosil y ramificaciones de α -D-galactopiranosil unidas por enlaces (1-6) y su peso molecular promedio es de 200 - 300 kDa (Di Battista, 2016).

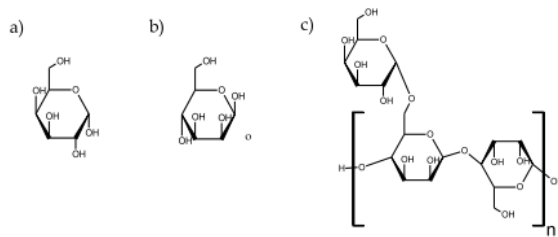


Figura 12 estructura de la Gg a) β -D-manopiranososa; b) α -D-galactopiranososa; c) unidad repetitiva de la Gg (Di Battista, 2016).

La povidexrosa es un polisacárido bajo en calorías, muy soluble en agua, inodoro e incoloro en solución y no es endulzante por lo que no interfiere en las aplicaciones alimentarias (Kuck *et al.*, 2016).

El Ap trigo tiene estructura globular y características catiónicas de pH ácido que facilita la unión entre polisacáridos con características aniónicas como la Gg, dando lugar a enlaces complejos proteína-polisacáridos que facilitan la encapsulación, además contiene aminoácidos y fracciones de péptidos que pueden actuar como antioxidantes (da Rocha *et al.*, 2021).

La pectina ayuda a reducir la higroscopicidad, probablemente por sus características de formar enlaces proteína-carbohidrato y la estabilidad que proporciona a la matriz del polímero (da Rocha *et al.*, 2021).

Los agentes encapsulantes cumplen también funciones extras como ingrediente funcional, así por ejemplo la inulina. La inulina es un fructooligosacárido, compuesto de unidades de fructosa unidas por enlaces β -(2-1) con una glucosa al final de la cadena y además es un polisacárido flexible (Beirão *et al.*, 2013) con buena interacción polímero-antocianina (Robert *et al.*, 2012), tiene múltiples aplicaciones tecnológicas, como sustituto de azúcares y grasas en alimentos bajos en calorías (Corrêa *et al.*, 2019). Además es un polímero de liberación colónica, con beneficios para la salud, como fuente de fibra, inhibidor de patógenos y disminuir los triglicéridos (Christian *et al.*, 2001). Las fuentes más importantes de inulina son *Cichorium intybus* (achicoria), *Dahlia pinuata* CaV. (Dalia) y *Helianthus tuberosus* (alcachofa de Jerusalén). Otro ejemplo es el alforfón por ser una fibra dietética libre de gluten, con proteína de alta calidad y polifenoles equivalentes a 3,2 mg GAE/g) (Hoskin *et al.*, 2019).

5.2.1.2 CONCENTRACIÓN DE LOS AGENTES ENCAPSULANTES

Junto con el tipo de encapsulante debe considerarse dentro de las variables de formulación la concentración de éste, que en microencapsulación es referida como la razón activo:encapsulante, generalmente existe un óptimo de concentración como se verá en el análisis de los estudios de la Tabla 5 . Usar

una mayor razón de activo, generalmente resulta en un menor porcentaje de retención (%R) del compuesto bioactivo, menor eficiencia de encapsulación (EE) y un mayor contenido superficial de activo (sin protección contra la oxidación). Esta tendencia es atribuida a que mayor cantidad de activo se encuentra cerca de la superficie de secado, donde especialmente las partículas volátiles se difunden en el aire (Jafari et al., 2008).

5.2.2 MICROENCAPSULACIÓN POR SECADO POR ATOMIZACIÓN

La microencapsulación por secado por atomización es la tecnología de encapsulación más utilizada en la industria alimentaria, debido a sus cortos tiempos de procesamiento, bajo costo operativo y porque el producto final es un polvo, que facilita y diversifica su aplicación en diferentes matrices alimentarias (Gharsallaoui *et al.*, 2007; *Burin et al.*, 2011). Este método se basa en la atomización de un líquido convirtiéndolo en un polvo seco con la ayuda de un inyector de aire caliente (Rattes *et al.*, 2007). En este caso, una solución de alimentación se alimenta a través de una boquilla o un atomizador de disco giratorio, para obtener pequeñas gotas seguidas de la evaporación del disolvente (Fatnassi et al., 2013). Estas partículas secas son separadas del gas secante, pasando a un ciclón como se muestra en la Fig. 12. Las principales variables de proceso del secado por atomización son la temperatura del aire de entrada, velocidad de flujo de aire de secado, velocidad de flujo de alimentación y

velocidad del atomizador de disco giratorio o presión en atomizador de boquilla (Schoubben et al., 2010).

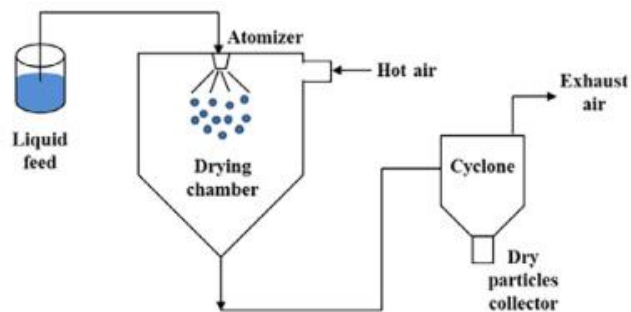


Figura 13 Esquema de secador por atomización (Schoubben et al., 2010)

Respecto a las variables de proceso, la temperatura de entrada del aire (T_a) juega un rol crítico en la degradación de los polifenoles y generalmente a mayor temperatura, menor estabilidad de los polifenoles (Roos *et al.*, 2017). Sin embargo, temperaturas suficientemente altas ($160\text{-}220^\circ\text{C}$) conducen a una formación rápida de la membrana semipermeable sobre la superficie de la gota, logrando una retención óptima de bioactivo, pero temperaturas mayores podrían causar un efecto de hinchamiento (ballooning), llevando a una menor retención de los polifenoles y si excediera el punto de ebullición podría causar que la gota se rompa (Jafari *et al.*, 2008). El flujo de aire de entrada puede ser a co-corriente o contra-corriente, lo cual incide en la temperatura de salida de las micropartículas, el primer tipo es recomendable para activos sensibles al calor, porque las temperaturas alcanzadas son bajas ($40\text{-}80^\circ\text{C}$), esto debido principalmente a que el activo no atraviesa la zona más caliente, pasa más rápido

por la cámara de secado y la evaporación es instantánea; el flujo a contra corriente, también tiene sus ventajas como son, una mayor vida de anaquel por el menor contenido de humedad final de las partículas y un menor consumo de energía (Roos *et al.*, 2017). Asimismo, a T_a (menor a 130 °C) hay una mayor retención de activo, contenido de humedad y densidad, pero por otro parte menor tiempo de disolución, higroscopicidad y eficiencia de encapsulación, además respecto a la morfología, las partículas son más suaves, redondeadas y continuas. Estas formas reducen la permeabilidad y mejoran la retención y protección del activo, contrario a altas temperaturas (160-190 °C) que presentan abolladuras o se agrietan y son de mayor tamaño, influyendo en la densidad aparente, dispersabilidad, ángulo de reposo, capacidad de rehidratación, flujo y solubilidad; características relacionadas con el manejo y almacenamiento (Sun *et al.*, 2020).

5.2.2.1 EFECTO DEL ENCAPSULANTE EN SA

En el caso de usar polisacáridos como encapsulante es habitual que a altas temperaturas de ingreso del aire, las partículas se peguen en las paredes del secador. Esto afecta directamente el rendimiento (% de sólidos recuperados). Un rendimiento alto significa mayor producción de polvo. Diferentes encapsulantes usados, presentan diferentes ventajas, así los encapsulantes a base de carbohidratos incrementan la temperatura de transición vítrea (t_g) de los polvos, formando una película con un valor alto de t_g al secarse (Hoskin *et al.*, 2019). Por

otro lado las proteínas tiene afinidad a la polaridad media de los polifenoles y ayudan en el secado eliminando la necesidad de Md y otros carbohidratos (Hoskin *et al.*, 2019). Además del tipo de encapsulante, se debe considerar la variable concentración de la solución, que al ser mayor, aumenta la viscosidad de la solución y a altas viscosidades se puede impedir el movimiento de la gota favoreciendo la formación de una membrana sólida alrededor de la gota, lo cual afectaría el tamaño de partícula, la densidad y la morfología (Roos *et al.*, 2017).

5.2.3 MICROENCAPSULACIÓN POR LIOFILIZACIÓN

La liofilización es una técnica de deshidratación que representa el proceso ideal para la producción de productos secos de alto valor. Esta técnica es conocida por su capacidad para mantener la calidad del producto (color, forma, aroma y valor nutricional) a largo plazo, debido a su baja temperatura de procesamiento y a la ausencia de oxígeno durante el proceso, lo que minimiza las reacciones de degradación (Karam *et al.*, 2016; Rezvankhah *et al.*, 2020).

El proceso consiste principalmente en dos pasos. El primer paso es la congelación de la materia prima, que en productos biológicos se realiza a -196°C (N_2 líquido) o a -80°C según disponibilidad de equipo (Roos *et al.*, 2017). La temperatura de congelación es un punto crítico que puede alterar la morfología de las partículas (Rezvankhah *et al.*, 2020). Para entender mejor el efecto de la temperatura en el nivel de congelamiento se presenta la Fig. 13.

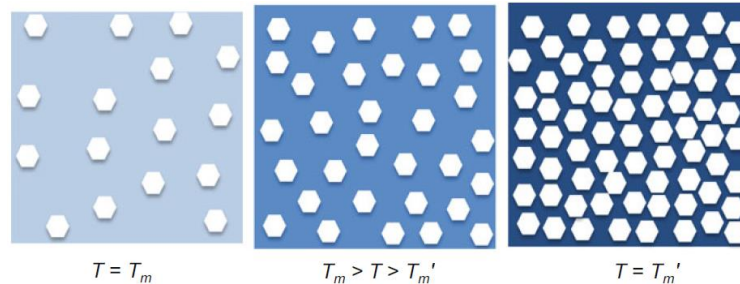


Figura 14 Cantidad relativa de hielo, que se forma en materiales biológicos. A temperatura de equilibrio de fusión (T_m), temperaturas superiores al inicio del derretimiento del hielo y en un estado de máxima concentración de congelado (T_m') (Roos *et al.*, 2017).

El segundo paso (liofilización) se realiza en el equipo de vacío, que baja la presión de la cámara de secado a $p < 1$ mbar. Por otro lado, el equipo de refrigeración se usa para bajar la temperatura de la superficie del condensador, por debajo de la temperatura de sublimación del hielo (Roos *et al.*, 2017). En general los polvos liofilizados presentan formas irregulares con una estructura porosa visible, baja densidad y contracción limitada, además tienen la propiedad de ser reconstituidos con facilidad y larga vida de anaquel (Rezvankhah *et al.*, 2020).

5.2.4 OTROS

Existen además otros métodos menos estudiados en encapsulación de ERB como son la encapsulación por: fluido supercrítico (FS), gelificación iónica, liposomas y emulsiones, además de existir otros aún menos comunes como la inclusión molecular estudiado por Kuck *et al.* (2019), entre otros.

5.2.4.1 MICROENCAPSULACIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

La encapsulación por fluidos supercríticos (FS) se ha vuelto una opción atractiva debido al uso de solventes amigables con el medio ambiente. Existe una tendencia al desarrollo de nuevas tecnologías que superen los inconvenientes de los métodos convencionales como: bajo control del tamaño y morfología de la partícula, degradación y pérdida de actividad biológica de compuestos termosensibles, baja EE y bajos rendimientos, además de minimizar la cantidad de residuos potencialmente peligrosos en las partículas (D. T. Santos et al., 2013). Esta tecnología permite un mejor control de las partículas, sin degradar o contaminar el producto. Es un proceso rápido y permite el uso de temperaturas menores a 80 °C, incluso más bajas que el secado por atomización y por vacío (Buratto et al., 2021). En la encapsulación con fluidos supercríticos, el activo y el encapsulante se dispersan o disuelven en un fluido supercrítico como dióxido de carbono. El fluido supercrítico es expulsado desde la boquilla en forma de spray. El dióxido de carbono se evapora rápidamente dejando un material particulado residual (Roos et al., 2017). El equipo básico se muestra en Fig. 14.

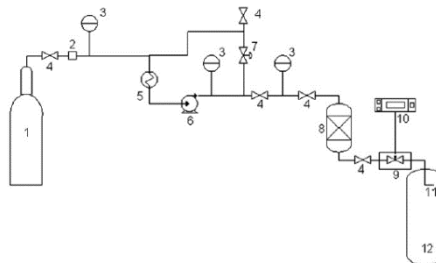


Figura 15 Diagrama de equipo de microencapsulación por FS. (1) cilindro de CO₂; (2) filtro de CO₂; (3) manómetros; (4) válvulas; (5) baño termostático; (6) bomba de CO₂; (7) regulador de contrapresión; (8) vaso de preexpansión; (9) válvula micrométrica (Roos et al., 2017).

Dependiendo del rol del fluido supercrítico, los procesos se clasifican en 3 categorías: como solvente (rápida expansión de la solución supercrítica FSRE), como anti-solvente (precipitación del anti-solvente supercrítico FSAS) y como soluto (partículas de solución saturada de gas FSSS) (Munin *et al.*, 2011). Finalmente, las propiedades del producto encapsulado dependerán de los ingredientes de formulación, la razón activo encapsulante, la solubilidad del activo en el fluido supercrítico y las condiciones de proceso (Roos *et al.*, 2017). En relación a los encapsulantes muchos autores proponen el uso de ciclodextrinas y otros como Eudragit y polivinilo, que proporcionan una solubilidad en agua específica y mejoran la actividad antioxidante (Buratto *et al.*, 2021).

5.2.4.2 MICROENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA

La gelificación iónica (GI) es otro método de encapsulación fisicoquímico basado en la capacidad de reticular polielectrolitos en presencia de iones polivalentes como Ca_2^+ , Ba_2^+ y Al_3^+ y puede ser aplicado por extrusión o emulsificación/gelación (Ozkan *et al.*, 2019b). La gelificación iónica es un método sencillo que consiste en gotear la solución (activo-encapsulante) en una solución ionotrópica (ej. ZnCl_2 0,3 M), produciendo perlas con una estructura de red tridimensional, a través de la interacción de iones de bajo peso molecular con la solución polimérica (Bittencourt *et al.* 2018). Los polímeros generalmente usados son alginato, quitosano, pectina, konjac y celulosa (Ozkan *et al.* 2019b). El agente encapsulante más usado es el alginato de sodio por ser un buen

encapsulante para RB, ya que es un biopolímero que al entrar en contacto con iones metálicos divalentes forma enlaces entre sus cadenas lineales y precipita (Bittencourt et al., 2018). El equipo básico se muestra en la Fig. 15, el cual es sencillo y de bajo costo. Este método consiste en hacer gotear la solución acuosa del polímero y activo con una jeringa o boquilla (1) en un contenedor con solución de CaCO_3 (2) sobre una placa con agitador magnético (3) (Ozkan et al., 2019b).

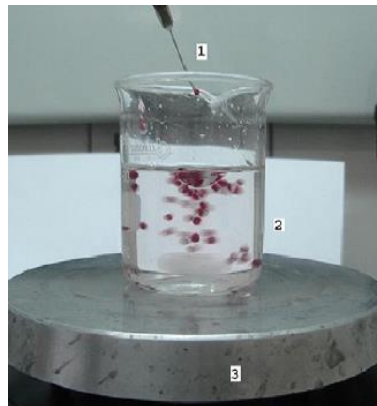


Figura 16 Encapsulación por gelificación Iónica. (Ozkan et al., 2019b).

5.2.4.3 MICROENCAPSULACIÓN POR LIPOSOMAS

Los liposomas son nano/micro vesículas coloidales formadas por una bicapa de fosfolípidos, usados para encapsular activos hidrófilos, hidrófobos y anfifílicos, útil en la protección de antocianinas. Los liposomas son esféricos y pueden ser de una o más capas (Tarone et al., 2020). Son biocompatibles, no tóxicos y permiten la liberación en un lugar específico, incrementando la biodisponibilidad. Entre sus usos están la protección de ingredientes sensibles, incrementar la

biodisponibilidad de nutrientes, la eficacia de aditivos alimentarios y reducir sabores indeseables (Constantin *et al.*, 2021). Finalmente tienen bajo costo, se pueden usar diversos tensoactivos a granel (ácidos grasos libres, monoacilgliceroles, diacilgliceroles y fosfolípidos, pueden además ser extraídos de huevos, soja, girasol o leche), formando los liposomas cuando estas sustancias se agregan en coloides asociados (Tarone *et al.*, 2020).

5.2.4.4 MICROENCAPSULACIÓN POR EMULSIONES

Consiste en al menos 2 líquidos inmiscibles, generalmente agua y aceite, donde uno se dispersa en pequeñas esferas (fase dispersa) en la fase continua (fase dispersante). Las antocianinas se incorporan como fase dispersa. La microencapsulación por emulsión es una de las técnicas más prometedoras para la distribución y entrega de polifenoles, por sus altas EE, alta estabilidad, liberación controlada y mejora de la biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal (Tarone *et al.*, 2020). Además, es un proceso simple de bajo costo energético.

Las emulsiones también pueden ser dobles, aquellas del tipo agua en aceite en agua son sistemas estables, bien definidos y con tamaño de partícula reproducible. Sin embargo, son susceptibles a desestabilizarse por separación gravitacional, floculación, coalescencia, maduración de Ostwald y difusión entre las fases acuosas (Bamba *et al.*, 2018).

La estabilidad física en las emulsiones es de gran importancia, siendo afectada por la fracción de volumen de aceite, la razón proteína:aceite, el tamaño de

partícula, la concentración del activo, la razón emulsificante:biopolímero y el pH durante la emulsificación. En este sentido el uso de complejos de concentrado de Ap trigo, Ga refuerza ambas interfaces dando estabilidad. Entre los parámetros a considerar están el índice de cremosidad (cambio de altura de la emulsión en el tiempo), tamaño de gota, reología (viscosidad), color, humedad y EE (Eisinaité et al., 2020).

5.3 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN DE RESIDUOS DE BERRIES

En general, la información sobre la microencapsulación de antocianinas de berries, se refiere al secado por atomización de extractos de frutas (Flores *et al.*, 2015; Jiménez-Aguilar *et al.*, 2011) o residuos de berries (Meng *et al.*, 2014). Para la realización de los estudios es muy importante el uso de técnicas estadísticas y matemáticas útiles para el desarrollo, la mejora y la optimización de los procesos, siendo de los más utilizados el método de superficie de respuesta, método rápido y económico, consiste en la recopilación de los resultados de investigación de una variable o un experimento factorial, permitiendo tanto el diseño experimental con un numero reducido de experimentos, como la optimización de las variables respuesta. Además tiene importantes aplicaciones en el diseño, desarrollo y formulación de nuevos productos, así como en la mejora de los diseños de productos ya existentes.

En estos estudios se investiga el efecto de las variables de entrada, sobre variables respuesta como retención y eficiencia de encapsulación de

antocianinas. Existen escasos estudios de microencapsulación de RB, y en tal sentido es necesario recopilar y analizar los avances en esta área a fin de que se puedan utilizar como herramienta de análisis y decisión a futuros investigadores y desarrolladores de alimentos o ingredientes funcionales. Con este objetivo se llevó a cabo una revisión de 104 estudios (periodo 2011-2021), de entre los cuales se seleccionaron 51 y sus principales resultados se muestran en la Tabla 9, mostrando los estudios de microencapsulación de polifenoles a partir de ERB más recientes, sus principales variables de proceso y formulación, y los resultados en términos de contenido de AT, PT, EE y AA.

Tabla 9 Estudios de encapsulación de antocianinas de extractos de residuos de berries.

Referencias	Tipo de berry	Método	Variables de proceso	Encapsulante y/o polímeros	Concentración PT / %R	Concentración AT / %R	EE (%)	AA
Brown <i>et al.</i> , 2020	Uva	SA	Ta: 160 °C	Ap suero y Ga	2,66 ***	0,34 ²	ND	DPPH 12,64 ¹
				Ap suero - Ga y pectina	2,3 ***	0,29 ²		DPPH 9,91 ¹
Dos Santos <i>et al.</i> , 2020	Mora	SA	Ta: 150 °C	Md 10 DE	27,7***	2,5*	ND	ND
Lu <i>et al.</i> , 2020	Arándano	SA	Ta: 150 – 190 °C	Md 2,5:20 a 2,5:50	ND	2,93-1,12 *	98,5-98,4 (AT)	
Santos <i>et al.</i> , 2019	Mora	SA	Ta: 170 °C	Md (1:1)	24-26 ***	1-2 *	ND	ND
Ćujić <i>et al.</i> , 2019	Bayas de aronia	SA	Ta: 130 °C	Md	ND	ND	96,9 (PT)	ND
				Leche descremada			96,6 (AT)	73,5 (PT)
Hoskin, <i>et al.</i> , 2019	Arándano	SA	Ta: 165 °C	Af; Gs y Af; Gs	99,3-119,3***	21,4-24,9*	ND	DPPH: 200,9- 270,7 ¹
				Ar; Ar y Af	67,8-82,5***	16,7-21,3*		DPPH: 95,4- 149,2 ¹
	Cranberry	SA	Ta: 165 °C	Af; Gs y Af; Gs	76-83,6***	1,8-2*		DPPH: 65,7- 96,2 ¹
				Ar; Ar y Af	46,8-49,9***	1,3*		DPPH: 29,7 ¹
	Uva	SA	Ta: 165 °C	Af; Gs y Af; Gs	147,3-174,3***	19,4-20,4*		DPPH: 408,9- 423,3 ¹
				Ar; Ar y Af	131,4-133,9***	18,6-18,8*		DPPH: 382,3- 384,3 ¹
Oliveira <i>et al.</i> , 2018	Uva	SA	Ta: 190 °C	Ap trigo	ND	0,16* / %R: 92,4	ND	ND
Tsali <i>et al.</i> , 2018	Uva	SA	Ta: 189 °C	Md y leche desnatada 50:50	ND	ND	92,5 (PT)	ND
Rezende <i>et al.</i> , 2018	Cerecita	SA	Ta: 170 °C	Ga y Md	11,5 ***	ND	65 (AT)	DPPH: 225 ¹
Cabral <i>et al.</i> , 2018	Jaboticaba	SA	Ta: 140 °C	Quitosano	ND	ND	89,7 (PT)	DPPH 296 ¹
da Fonseca <i>et al.</i> , 2018	Mora	SA	Ta: 105 °C	Polivinil-pirrolidona	ND	1,36 *	ND	DPPH: 109 ¹
Kalušević <i>et al.</i> , 2017	Uva	SA	Ta: 140 °C	Md 10% Ga 5% Leche desnatada 10%	ND	ND	62 (PT) 85 (PT) 64 (PT)	ND
Waterhouse <i>et al.</i> , 2017	Arándano	SA	Ta: 150 °C	Alginato	ND	19,54 ± 0,10 *	72,1	ND
				Inulina			18,21 ± 0,11 *	67,5
Borges <i>et al.</i> , 2017	Jaboticaba	SA	Ta: 100-120 °C	Md 30%	%R 40-112			%R DPPH: 54,5
Correia <i>et al.</i> , 2017	Arándano	SA	Ta: 190 °C	Ap trigo; Ap garbanzo o Ap soya	ND	11,02- 11,78 *	ND	ND
Bergamasco <i>et al.</i> , 2017	Mora	SA	Ta: 170 °C	Md	45-58***	1,7-3,5 *	ND	FRAP 36000- 61000 ¹

Tabla 9 Estudios de encapsulación de antocianinas de extractos de residuos de berries.

Referencias	Tipo de berry	Método	Variables de proceso	Encapsulante y/o polímeros	Concentración PT / %R	Concentración AT / %R	EE (%)	AA
Borges <i>et al.</i> , 2017	Jaboticaba	SA	Ta: 100-120 °C	Md 30%	%R 40-112	ND	ND	%R DPPH: 54,5
Lavelli <i>et al.</i> , 2017	Uva	SA	Ta: 150 °C	Md	87,7 ***	6,9 ²	ND	FRAP 706 ³
Rigon <i>et al.</i> , 2016	Mora	SA	Ta: 140-160 °C	Ga 10% y povidexrosa 15%	21,1-24,3***	8,8-13*	ND	DPPH 31-40 %
Kuck <i>et al.</i> , 2016	Uva	SA	Ta: 140 °C	Ga 5% y povidexrosa 5%	26,26 ***	21,15 ²	ND	DPPH 128 ¹
Boonchu <i>et al.</i> , 2015	Uva	SA	Ta: 140 °C	Md 7-28% y Carboximetil-celulosa 0,2-1,4%	13-42 ***	0,1-0,8 **	ND	ND
Flores <i>et al.</i> , 2014	Arándano	SA	Ta: 160 °C	Ap suero 30%	%R 138	%R 44	ND	FRAP %R 98
				Ga 30%	%R 107	%R 67		FRAP %R 97
				Ap soya.		1,32 *	70	FRAP 0,048 ³
Ibrahim <i>et al.</i> , 2013	Jaboticaba	SA	Ta: 160 °C	Md 30%	ND	%R: 99	ND	ABTS: 9730 ¹
				Ga 25% Md 5%		%R: 100		ABTS: 9800 ¹
				Capsul 25% Md 5%		%R: 80	ABTS: 8210 ¹	
Bakowska <i>et al.</i> , 2011	Grosella negra	SA	Ta: 150-180 °C	Md (DE11, DE18, DE21)	9,1-12,5 ***	3,6 – 4,5 *	ND	DPPH 2,8-4,2 mM/ 100 g F
				Inulina	7,7-9,7 ***	3 - 4 *		DPPH 1,7- 2,5 mM/ 100 g F
Lim, <i>et al.</i> , 2011	Arándano	SA	Ta: 150 °C	Md 5: 95	33,5 ***	1,8 **; %R 94	ND	ORAC 748 ¹
				Md 10: 90	30,1 ***	1,1 **; %R 60		ORAC 674 ¹
				Md 30:70	24,6 ***	1,3 **; %R 30		ORAC 443 ¹
Brown <i>et al.</i> , 2020	Uva	SL	Tc: -68 °C 72h y 0,09 mmHg	Ap suero y Ga	2,42 ***	0,353 ²	ND	DPPH 10,92 ¹
				Ap suero Ga y pectina	1,88***	0,321 ²		DPPH 7,99 ¹
Lachowicz <i>et al.</i> , 2020	Sascacun	SL	Tc: -60 °C 24 h 0,1 mBar	Inulina 50-30%	75,3-78,7 ⁴	22,9-37,1 **	ND	FRAP 49 – 73 ¹
				Md 50-30%	63,9- 74,7 ⁴	22,7-34,0 **		FRAP 53 – 79 ¹
Milea <i>et al.</i> , 2019	Cereza	SL	ND	Ap trigo y quitosano	ND	0,14 *	77,7	DPPH: 0,85 ¹
Rezende <i>et al.</i> , 2018	Cerecita	SL	Tc -18 °C 48h 0,4mBar	Ga y Md	10,3 ***	ND	70	DPPH: 200 ¹
da Fonseca <i>et al.</i> , 2018	Mora	SL	Tc -18 °C 20µgHg	Polivinil-pirrolidona	ND	1,05 *	ND	DPPH: 114 ¹

Tabla 9 Estudios de encapsulación de antocianinas de extractos de residuos de berries.

Referencias	Tipo de berry	Método	Variables de proceso	Encapsulante y/o polímeros	Concentración PT / %R	Concentración AT / %R	EE (%)	AA
Oancea <i>et al.</i> , 2018	Guinda	SL	Tc: -70 °C 48h 0,01mBar	Ap trigo Y Goma de acacia 2%	0,06 ***	0,32 *	70 (AT)	DPPH: 0,048 ¹
Rodrigues <i>et al.</i> , 2018	Jaboticaba	SL	Tc: -18 °C 30h	Md Md (99,5%) y Goma xantan (0,5%)	56,6 *** 55***	1,8 * 1,6*	80 (AT)	ND ND
Pereira <i>et al.</i> , 2017	Jaboticaba	SL	Tc: -40 °C 96 h; 230-300 Hg	Md 20%	1,31 ***	0,07 *	ND	ABTS 2531 ¹
				Md 15% y pectina 5%	1,40 ***	0,06 *		ABTS 2364 ¹
				Md 15% y Ap soya 5%	1,78 ***	ND		ABTS 3108 ¹
				Md 10% pectina 5% y Ap soya 5%	1,68 ***	0,07*		ABTS 2267 ¹
Oancea <i>et al.</i> , 2017	Guinda	SL	Tc: -70 °C 48h; 0,1 mbar	β-Lactoglobulina (bobina)	ND	0,14*	64,7	ND
Correia <i>et al.</i> , 2017	Arándano	SL	Tc -45 °C	Ap trigo, de garbanzo o de soya	ND	10 – 11 *	ND	ND
Tumbas <i>et al.</i> , 2017	Guinda	SL	Tl: -40 °C 24h	Ap soya	1,2***	0,9 *	94,9 (PT) 90,1 (PT)	DPPH 0,14 ¹
				Ap trigo	1,1 ***	0,2*		DPPH 0,15 ¹
Tumbas <i>et al.</i> , 2016	Guinda	SL	Tl: -40 °C 24h	Ap soya 2:1	1,8 ***	0,3*		
				Ap trigo 2:1	0,8 ***	0,2*		
Kuck <i>et al.</i> , 2016	Uva	SL	Tc: -68 °C 48h; 20 mmHg	Ga, Gg y povidexrosa	24,6***	18,4 ²	ND	DPPH 75,7 ¹
Stoll <i>et al.</i> , 2016	Uva	SL	ND	Ga y Md	ND	%R 91,5	89,6	ND
				Ga		%R 85,9	89,5	
				Md		%R 87,7	88	
Buratto <i>et al.</i> , 2021	Semilla de Acaí	FSAS	40°C 100 bar	Polivinil-pirrolidona	211***	ND	ND	ND
da Fonseca <i>et al.</i> , 2018	Mora	FSAS CO ₂ y etanol	40°C 10 Mpa	Polivinil-pirrolidona	ND	1,42 *		DPPH: 98 ¹
Santos <i>et al.</i> , 2013	Jaboticaba	FSRE; CO ₂ y etanol	40°C; 20Mpa	Polietilenglicol	ND	ND	79,78 (AT)	ND
				Alginato de Ca				
de Cássia <i>et al.</i> , 2021	Jaboticaba	Ge iónica		Alginato de sodio	13,9***	ND	36,7	ND
Lavelli <i>et al.</i> , 2019	Uva	Ge iónica (vibración)	0,5 bar 1000 Hz distancia 20cm	Alginato de sodio Cloruro de calcio 0,1 M	36 ***	ND	68	ND
Bittencourt <i>et al.</i> , 2018	Arándano	Ge iónica		Alginato de sodio	2,81*** %R 67	0,4*	ND	ABTS 9,1 ¹
Oidtmann <i>et al.</i> , 2012	Arándano	Ge iónica		Pectina amidada, cloruro de calcio, glicerol anhidro	ND	ND	99 (AT)	ND
Oidtmann <i>et al.</i> , 2012	Arándano	Em/Ge térmica		Ap trigo, aceite de girasol	ND	% R: 92	95,6	ND
Eisinaité <i>et al.</i> , 2020	Aronia	Doble-Em/SL		Aceite de canola	ND	ND	95,4 (AT)	ND
Bamba <i>et al.</i> , 2018	Arándano	Doble Em	50-200Mpa;	Ap trigo	ND	ND	74-86 (PT) 69-81 (AT)	ND

Tabla 9 Estudios de encapsulación de antocianinas de extractos de residuos de berries.

Referencias	Tipo de berry	Método	Variables de proceso	Encapsulante y/o polímeros	Concentración PT / %R	Concentración AT / %R	EE (%)	AA
			6000-12000 rpm; 15-20m					
Constantin et al., 2021	Uva	Vesículas de fosfolípidos		Pectina	ND	13,9*	81,32	ND
				Goma acacia		15,4*	96,07	
				Ap trigo			89,48	
				Lecitina de soya			94,16	

C3G: equivalente a cianidina-3- glucósido; FRAP: poder antioxidante reductor férrico; ORAC: capacidad de absorción de radicales de oxígeno; EE: eficiencia de encapsulación; a: antocianidinas; A:M: relación arándano/Md T: temperatura; SA: secado por atomización; SL: secado por liofilización; FS: fluido supercrítico; RE: rápida expansión; AS: anti solvente; Ev: evaporación; Co: coacervación; Ge: gelificación; Em: emulsificación; AA: Actividad antioxidante; *: mg C3G/g polvo; **: mg antocianidinas/ g polvo; ***: mg GAE/g polvo; ¹ : μmolTE/g polvo; ² : mg malvidin-3,5-di glucósido/g polvo; ³ : μmoFe(II) E/g polvo; 4: mg/g; F: peso fresco; Tc: temperatura congelación; Ta: temperatura de entrada del aire; AT: antocianinas totales; PT: polifenoles totales; Ap: aislado de proteína; Af: Alforfón; Gs: Guisante; Ar: arroz; Ga: Goma arábica; %R: porcentaje de retención

5.3.1 RB MAS ESTUDIADOS EN MICROENCAPSULACIÓN

A partir de la Tabla 9, es posible observar las tendencias de encapsulación de los RB, y como se observa en la Grafico 5, los residuos de uva y de arándano son los más utilizados, lo que podría deberse a la mayor cantidad disponible (sección 1.1.2) y a los mayores contenidos de polifenoles y antocianinas que permiten su microencapsulación. En el caso de las micropartículas de residuos de uva y arándano, los rangos de contenidos de PT y AT son similares y relativamente altos: para micropartículas (MCPs) de residuos de uva PT (2-161 mg GAE/g polvo) y AT (0,2-19 mg C3G/g polvo) y para MCPs de residuos de arándano PT (25-109 mg GAE/g polvo) y AT (1,3-23 mg C3G/g polvo), le siguen MCPs de residuos de mora, Jabuticaba, y guinda con contenidos descendentes de PT y AT. En este sentido Hoskin *et al.* (2019) han comparado el contenido de polifenoles en partículas por SA a partir de ERB, encontrando, que el contenido de AT, PT y DPPH en orden decreciente es uva morada > arándano > cranberry.

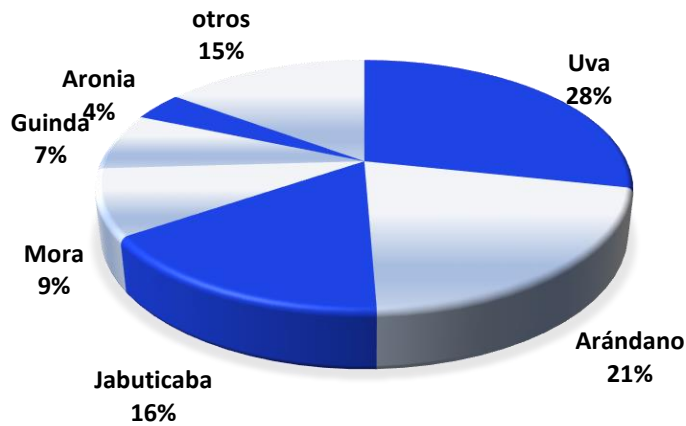


Gráfico 5 Residuos de berries estudiados en microencapsulación. (Fuente: tabla 9)

5.3.2 ENCAPSULANTES UTILIZADOS EN LOS ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN DE ERB

Los encapsulantes más utilizados en la formulación para la microencapsulación de residuos de berries por SA y SL se muestran en gráfico 6, se puede destacar que el encapsulante más usado es la Md o Md en mezcla, representando un 42% de los estudios encontrados, seguida de Ga o sus mezclas, con un 20%. La preferencia de la Md y goma arábiga podría deberse entre otras razones a que permite obtener buenas eficiencias de encapsulación, como se observa al comparar las EE de los diferentes estudios, donde se encontró un promedio de EE de AT usando Md como agente encapsulante del 91% y usando la Ga y sus mezclas una EE de AT de 90%, y para los otros encapsulantes entre 74 y 68%. La alta afinidad de la Md con los polifenoles se podría deber a que los polifenoles pueden unirse de forma no covalente a polisacáridos y proteínas por interacciones entre grupos hidrofóbicos, así como también por puentes de

hidrógeno. La potencialidad de estas uniones, está relacionada con las propiedades de la estructura del polifenol: peso de la molécula, flexibilidad de la estructura química y número de grupos hidroxilo (Ćujić-Nikolić et al. 2019). Estas y otras propiedades (sección 4.2.1.1), hacen que la Md sea comúnmente utilizada. Por ejemplo en el estudio de Rigon *et al.* (2016) se encontró un mayor %R AT al usar Md, que cuando se usaba povidexrosa ($p < 0,05$). Otra tendencia es el uso de mezclas de encapsulantes a fin de mejorar la encapsulación. La mezcla de Md y proteínas favorece la protección de compuestos bioactivos y combina las propiedades específicas de cada polímero (Mourtzinou *et al.*, 2019; Hoskin *et al.*, 2019).

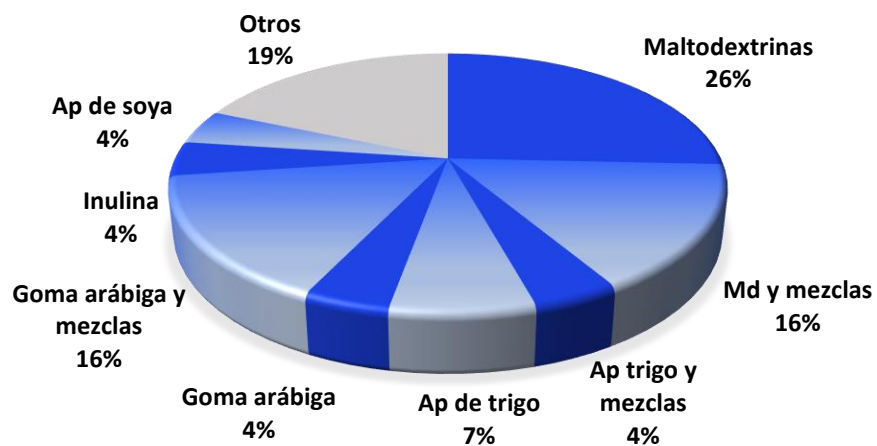


Gráfico 6 Uso porcentual de los agentes encapsulantes en SA y SL de ERB. Ap: aislado de proteína. (Fuente: Tabla 9)

5.3.2.1 EFECTO DEL ENCAPSULANTE EN LAS VARIABLES RESPUESTA ESTUDIADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE ERB

Gran parte de los estudios de encapsulación de ERB reportan variables respuestas comunes, dentro de ellas, el rendimiento del proceso, el contenido de polifenoles de las micropartículas (PT, AT o antocianinas monoméricas) y la EE de PT, AT o de antocianinas monoméricas. En el caso del rendimiento (% recuperación de sólidos), Hoskin *et al.* (2019) utilizó distintos agentes encapsulantes en la encapsulación de ERB. Estos autores observaron que el rendimiento fue mayor al usar guisantes, alforfón o la mezcla de estos respecto a usar harina de arroz como agente encapsulante. Así mismo Kalušević *et al.* (2017) encontraron mayores rendimientos usando leche desnatada (81%) que Md (75%) y Ga (66%). Por otra parte Lachowicz *et al.* (2020), no encontraron diferencias significativas en el rendimiento al usar Md o inulina en SA.

En relación al contenido de polifenoles en las micropartículas, Lachowicz *et al.* (2020) estudiaron el impacto de la Md y la inulina en la protección de antioxidantes a partir de ERB. Estos autores encontraron que usando inulina el contenido de PT era mayor y usando Md el contenido de AT era mayor. Por otro lado Bakowska *et al.* (2011) utilizando Md, alcanzaron contenidos de PT, AT y AA significativamente mayores, en comparación con la inulina. En la Md se considera además el DE, pero en este caso no afectó el contenido de PT, AT y AA. En este mismo sentido Čujić-Nikolić *et al.* (2019) en partículas de ERB por SA, encontraron que los contenidos de PT y AT utilizando Md, eran significativamente mayores cuando se usaba leche desnatada, esto probablemente porque la pectina y la hemicelulosa del ERB (bayas de aronia)

impedían la asociación de los polifenoles con la proteína de la leche. Por otra parte, Hoskin *et al.* (2019) utilizando SA con 3 encapsulantes a base de proteínas vegetales y sus mezclas (harina de alforfón, guisante y arroz), para diferentes ERB encontraron altos contenidos de PT, cuando se utilizan encapsulantes con mayores contenidos de proteínas, obteniendo los siguientes resultados en orden decreciente de contenido de PT, para residuos de arándano (guisante > alforfón \approx guisante-alforfón > arroz-alforfón > arroz), para cranberry (guisante \approx guisante-alforfón \approx alforfón > arroz-alforfón \approx arroz) y para uva (alforfón > guisante \approx guisante-alforfón > arroz-alforfón \approx arroz). Este estudio mostró que la harina de guisante es el mejor encapsulante para 2 de 3 de los ERB, dado lo cual recomiendan que en la selección del encapsulante se debe considerar, no solo las propiedades de este, sino también el activo a encapsular. Otro estudio con mezclas de encapsulantes es el de Brown *et al.* (2020) encontrando incrementos en el contenido de AT (17%), PT (15%) y AA (DPPH 27%) usando Ap suero y Ga en comparación con Ap suero - Ga y pectina. Por otra parte Lachowicz *et al.* (2020), encontraron que si bien el encapsulante tiene influencia en el contenido de PT y AT este es más dependiente del activo encapsulado que de los encapsulantes usados.

Una de las variables más evaluadas en la microencapsulación de ERB es la EE. En general, este parámetro fluctúa entre 60 y 99%, predominando EE entre 90 y 99% como se muestra en la gráfica 7, donde utilizando Md y proteínas, como agentes encapsulantes se alcanza eficiencias de aproximadamente un 90%, en

cualquiera de los 3 métodos de encapsulación más comunes. En este mismo sentido Ćujić-Nikolić *et al.* (2019) estudiando partículas de ERB por SA, encontraron que la EE utilizando Md (97%), fue significativamente mayor respecto a leche desnatada (73,5%). Por otra parte Kalušević *et al.* (2017) obtuvieron mayores EE con Ga (85%) en comparación con leche desnatada (64%) o Md (62%). Así mismo Flores *et al.* (2014) con MCPs de ERB por SL obtuvieron mayores EE con Ga y Md (89,6%) o Ga (89,5%) que con Md (88%). Estas altas EE con Ga podrían explicarse por los puentes de hidrógeno de los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos con un polisacárido no almidón, como Ga, que tiene una alta proporción de fracción aniónica aportada por el arabinogalactano glucurónico. Sin embargo, también se encuentran estudios con baja EE con estos encapsulantes, esto podría deberse a que la EE depende no solo del tipo de encapsulante sino también de otras variables como la concentración y la temperatura de encapsulación.

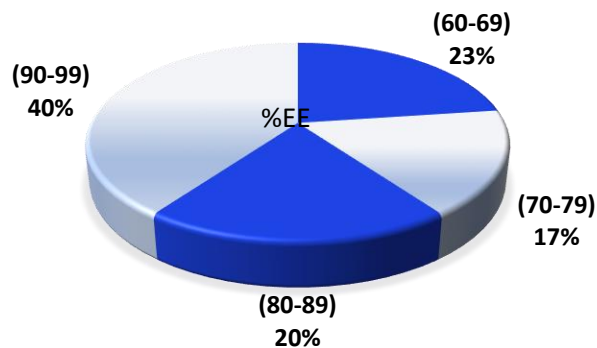


Gráfico 7 Porcentajes de los rangos de eficiencias de encapsulación alcanzadas en los estudios con ERB. (Fuente tabla 9)

5.3.2.2 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL AGENTE ENCAPSULANTE EN LOS ESTUDIOS CON ERB

La concentración al igual que el tipo de encapsulante, es otra variable de formulación que permite alcanzar mayor o menor concentraciones de activo y rendimientos, así por ejemplo Lachowicz *et al.* (2020) encontraron que al aumentar la concentración de encapsulante (Md o Inulina) en un 20% en SL de saskatun, provocó una disminución de 1,5 veces el contenido de polifenoles y 1,6 veces el del potencial antioxidante de las macropartículas. En este mismo sentido Boonchu *et al.* (2015) estudió el efecto de la concentración (%peso/volumen) de Md (X1) y carboximetilcelulosa (CMC (X2)) en SA de polifenoles a partir de residuos de uva y determinaron los siguientes modelos matemáticos: $PT = 39,68 - 1,05(X1)$; $rendimiento = 7,45 + 0,15(X1) - 2,65(X2)$. Donde se observa que el contenido de PT disminuye al aumentar concentración de Md y el rendimiento de producción aumenta, al aumentar Md y disminuir CMC. Por otra parte Lim, *et al.* (2011), estudiaron la encapsulación de arándano por SA a diferentes razones (sólidos de residuo:encapsulante), encontrando diferencia significativa en la mayor retención de componentes, cuando se incrementaba los niveles de Md, indicando el efecto protector de la misma, así cuando aumentaron la Md de 30:70 a 5:95 se alcanzó mayores AA (ORAC aumentó en 1,7 veces) y PT (aumentó en 1,4 veces). En este mismo sentido Lu *et al.*, (2020) estudiaron diferentes concentraciones de Md en SA de residuos de arándano, encontrando que al triplicar la concentración de Md (20–60 g equivalente a razones de 1:8 a 1:24), la

retención de antocianinas incrementaba (96,4-99,3 %), así mismo el rendimiento de producción aumentaba (94,8-98,3 %), mientras que la EE en este rango de concentraciones no experimentó un cambio significativo.

Los diferentes encapsulantes y sus concentraciones además de influir en el contenido de activo encapsulado también influyen en otras propiedades como la higroscopicidad. En este sentido Ibrahim *et al.* (2013) estudiaron la encapsulación de ERB con Md, Ga, capsul y sus combinaciones, encontrando que los encapsulantes eran los principales responsables de la higroscopicidad de los polvos obtenidos. La mayor higroscopicidad la alcanzó Ga (18 g H₂O/100g) respecto a los otros encapsulantes (13-15 gH₂O/100g). Una alta higroscopicidad afecta negativamente la vida útil del polvo. Además de incidir en %R de antocianinas y %R de color. La menor retención se encontró al usar capsul/Md. Considerando todas estas propiedades el mejor encapsulante (en base a la función de deseabilidad %R AT, cambio de color, contenido de humedad e higroscopicidad) fue Md. De igual forma, las partículas con Md y su mezcla con Ga eran homogéneas y con menos rugosidades que las de capsul. Otras propiedades en las que influye el encapsulante y su concentración son, el brillo y la solubilidad (Rigon *et al.*, 2016).

A razones de encapsulación (ERB:encapsulante) de 1:2 hasta 1:20 o concentraciones de 20-30%, los estudios de encapsulación de ERB alcanzaron muy buenas EE (>90 %) (Lu *et al.*, 2020; Čujić-Nikolić *et al.*, 2019; Tsali *et al.*, 2018; Stoll *et al.*, 2016). Finalmente, la selección de un encapsulante dependerá

de las propiedades de encapsulación de este, el activo que se esté encapsulando y los requerimientos específicos para el uso a que se destine.

5.3.3. METODOLOGÍAS MAS USADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE ERB.

En general, es posible observar que los métodos de encapsulación de ERB más estudiados son SA y SL, como se puede observar en el Gráfico 8, por lo que en este trabajo se abordaran principalmente estos 2 métodos. Esta mayor preferencia es debida a sus ventajas de escalación a nivel industrial, entre otras ya abordadas en la sección 4.2.2 y 4.2.3. Existen escasos estudios que comparen las diferentes metodologías de encapsulación, entre los que se encuentran los que comparan los métodos de SA y SL en términos de retenciones de polifenoles en cada método. En este sentido Stoll *et al.* (2016) por SL de ERB con Ga obtuvieron %R (AT) de 85,9 y Flores et al. (2014) por SA de ERB con Ga, un %R (AT) de 67%. Encontrándose que en ambos métodos hay pérdidas de %R (AT). En el caso de SA podrían ser atribuidas a las altas temperaturas y exposición al oxígeno, causando degradación y polimerización. La degradación inducida por el O₂ es debida a la naturaleza insaturada de las antocianinas y su susceptibilidad a reaccionar con el O₂, si bien no impacta en la formación de glicósidos de chalcona y cumarina, si acelera la oxidación del benzaldehído, formando productos de degradación secundaria como ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico, además en presencia de luz, el O₂ puede convertir los radicales excitados de las

antocianinas en sus homólogos de peroxilo, que promueven la degradación (Y. Huang et al. 2021). Por otra parte las altas temperaturas podrían causar fisuras en las superficies de las partículas, provocando liberación prematura del activo y su degradación. En cambio para SL las pérdidas podrían ser atribuidas al proceso de molido del producto liofilizado, que al exponerlo podría inducir a reacciones de oxidación. Así también en el proceso de sublimación del agua donde se forman poros en las micropartículas. (Kuck *et al.*, 2016; Rezende *et al.*, 2018; da Rocha *et al.*, 2021).

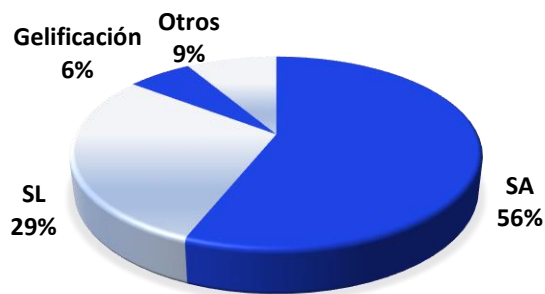


Gráfico 8 Metodologías estudiadas para la encapsulación de polifenoles a partir de ERB (Fuente: Tabla 9).

Al comparar ambos métodos Kuck *et al.* (2016) encontraron que las pérdidas de polifenoles en SA(5-18%) eran levemente menores que en SL(6-19%). En este mismo sentido da Rocha *et al.* (2021) encontraron que los PT era 15% mayores por SA que por SL, pero en el caso de las AT, no presentaron diferencia significativa entre los métodos. Así mismo Brown et al. (2020) encontraron que con SA se obtenían MCPs con mayores contenidos de PT (hasta 22% más) y AA DPPH (hasta 24% más) en comparación con SL. Sin embargo, con SL se

obtenían MCPs con mayores contenidos de AT(hasta 9% más) en comparación con SA. en residuos de uva. Por otra parte, Correia et al. (2017) compararon ambos métodos usando Ap soya, garbanzo y trigo, encontrando que solo cuando se usó Ap soya como encapsulante obtuvieron diferencia significativa en PT y AA (mayores en SA que en SL). Luego al analizar las AT estas no obtuvieron diferencia significativa en ningún caso. El mayor contenido de polifenoles encontrado en SA se podría deber, a que si bien las temperaturas son altas, los tiempos de secado son muy cortos, casi instantáneos. De manera similar al revisar los estudios encontrados se verificó un mayor contenido en SA, al comparar rangos siguientes: para SA se encontró PT (2-88 mg GAE/g polvo), AT (0,2-19 mg C3G/g polvo) y AA (DPPH: 10-296 $\mu\text{molTE/g}$ polvo) y en SL contenidos de PT(1,3-69 mg GAE/g polvo), AT (0,1-11 mg C3G/g polvo) y AA (DPPH: 11-200 $\mu\text{molTE/g}$ polvo). Es notable que en los estudios de SL, los RB usados fueron de menor contenido de AT que los RB usados e SA. Al considerar la EE en los estudios revisados, existen escasas diferencias entre las metodologías, así para SA se reporta un rango y promedio de (64-98; \bar{x} : 78 %) y para SL (65-90; \bar{x} : 80).

5.3.4 VARIABLES ESTUDIADAS EN LA ENCAPSULACIÓN DE ERB POR SECADO POR ATOMIZACIÓN

En los estudios encontrados de SA de ERB, se han estudiado distintas temperaturas de entrada de aire (T_a) en el rango de 105°C-190°C, La

optimización de la temperatura permitió aumentar el contenido de PT en 15-25%, AT en 26-160% y AA en 29-50%. Además, por optimización del encapsulante se logró aumentar el contenido de PT en 15-79%, AT en 10-64% y AA en 10-200%. El efecto de la variable de formulación (encapsulante) y proceso (T_a), sobre los contenidos de AT y PT de estudios revisados en este trabajo se muestran en el Gráfico 9, donde se observa que la temperatura de entrada (T_a) más frecuente es de 150-170 °C presentando buenos contenidos de PT (2-88 mg GAE/g) y AT de (1-19 mg C3G/g). La razón para la selección de la T_a , podría deberse a que estas temperaturas preservan mejor los contenidos de activo, además de otras propiedades importantes, como lo demostraron Lee *et al.* (2014). Estos autores evaluaron el efecto de la T_a (160-200 °C) en la microencapsulación de ERA, reportando que al aumentar la T_a (180-200 °C) se incrementa la pérdida de antocianinas. Asimismo, Lu *et al.* (2020) estudiaron el efecto de la T_a (150-190 °C), encontrando que el rendimiento y la retención de AT no se ven afectados entre los 150-180 °C, pero al pasar de 180 a 190 °C se reducen significativamente tanto el rendimiento (96-36%) como el %R de AT (98-38%). Estos mismos resultados fueron obtenidos por Bakowska *et al.* (2011) para los contenidos de AT, PT y AA (DPPH), que no fueron afectados entre 150 y 180 °C pero a mayores temperaturas se redujeron significativamente. En este mismo sentido Rigon *et al.* (2016) encapsularon RB (mora) con Ga a 140 y 160 °C. Estos autores reportaron que a mayores T_a (160 °C) tanto el contenido de PT (de 24 a 22 mg GAE/g) como de AT (de 13 a 12 mg C3G/g) se redujeron significativamente ($p < 0,05$), mientras

que la AA (DPPH) no se modificó significativamente. En este mismo ámbito, Ibrahim *et al.* (2013) estudiaron la encapsulación por SA de ERB (Ta: 140-180 °C) encontrando que el mayor %R antocianinas se obtenía a 160 °C, pero al realizar la optimización por múltiples variables (mayor %R y pigmentación y menor cambio de color, contenido de humedad e higroscopicidad) se obtuvo un resultado óptimo a 180 °C. Este comportamiento de degradación de las antocianinas se podría deber a que la exposición de las antocianinas a altas temperaturas causa la apertura del anillo flavilio, formando la estructura chalcona que es el primer paso en la degradación de antocianinas. Además, altas temperaturas y pH bajo (2-4) inducen la hidrólisis de los grupos glicosídicos, llevando a la pérdida de color y estabilidad. En este sentido la Ta también está relacionada con la actividad antioxidante, ya que las altas temperaturas dañan la estructura de los compuestos fenólicos, causando que se rompan las estructuras y formen nuevos compuestos, con la consecuente reducción de actividad antioxidante. A diferencia de lo anterior, a bajas Ta, los polvos son más propensos a la adhesión de las partículas reduciendo así la exposición al oxígeno y protegiendo las antocianinas de la oxidación (Rigon *et al.*, 2016). Por otra parte el %R de PT en estos estudios fluctuó entre (40 y 138%), estas altas recuperaciones mayor al 100% pueden ser explicadas por la liberación de otros compuestos fenólicos, así por ejemplo por ruptura de la estructura de elagitaninos o antocianinas durante el SA (Borges *et al.*, 2017).

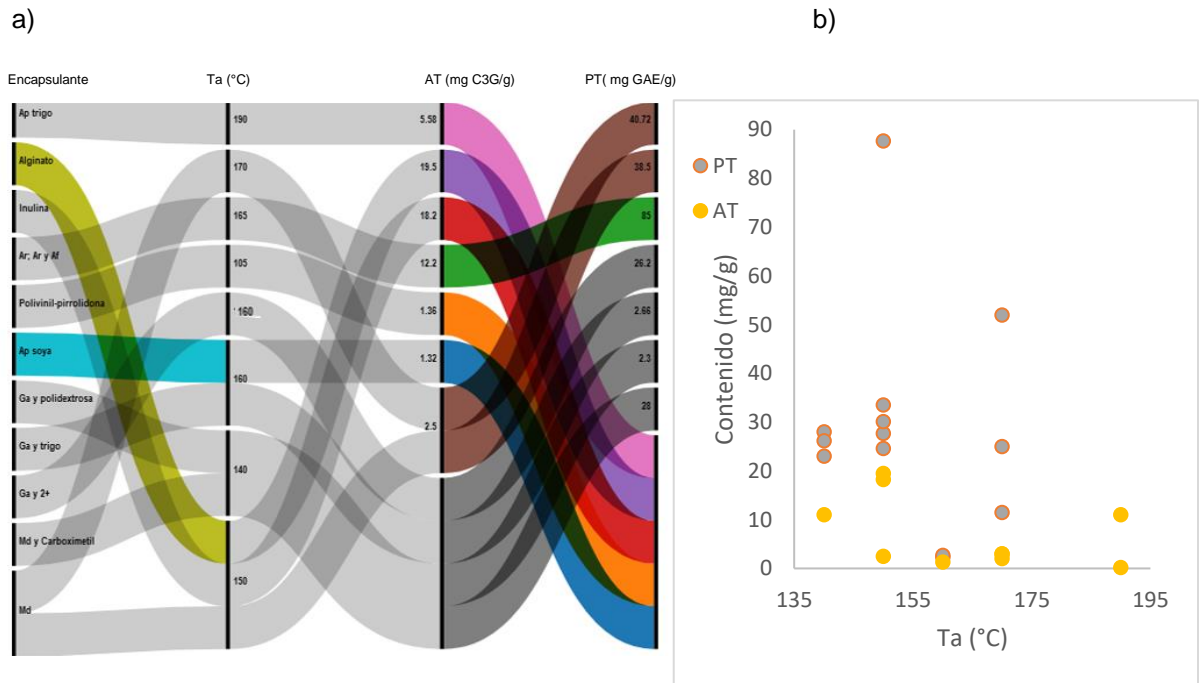


Gráfico 9 a) correlación entre encapsulantes, Ta y los contenidos de AT y PT en SA b) contenidos de PT (mg GAE/g) y AT (mg C3G/g) a diferentes Ta en SA. (Boonchu et al., 2015); (Lavelli et al., 2017); (Bergamasco et al., 2017); (Dos Santos et al., 2020); (Kuck et al., 2016); (Santos et al., 2019); (Lim, et al., 2011); (Rigon et al., 2016); (Rezende et al., 2018); (Brown et al., 2020); (Waterhouse et al., 2017); (Correia et al., 2017); (Lu et al., 2020); (da Fonseca et al., 2018); (Flores et al., 2014).

Al relacionar la temperatura con la EE (gráfico 10), se observa que entre 130 y 170 °C las EE obtenidas fueron bastante similares, lo que indica que en este rango la Ta tiene una pequeña influencia sobre la EE. Así mismo en el estudio de Lu *et al.* (2020) estudiaron el efecto de la temperatura de entrada del aire (150-190 °C), encontrando que ésta no incide en la EE (98,5-98,4%).

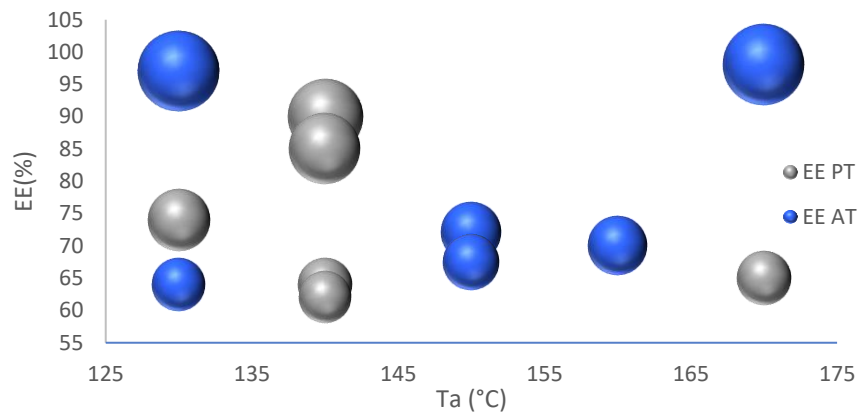


Gráfico 10 %EE AT y PT a diferentes temperaturas. (Ćujić et al., 2019); (Tsali et al., 2018); (Cabral et al., 2018); (Kalušević et al., 2017); (Rezende et al., 2018); (Lu et al., 2020); (Waterhouse et al., 2017); (Flores et al., 2014).

La Ta también influye sobre la actividad de agua (en forma lineal, disminuye al aumentar la temperatura) y sobre la morfología (bajas temperaturas tienen una difusión lenta del agua resultando en deformación, encogimiento y colapso de la estructura) (Borges et al., 2017).

5.3.5 ESTUDIOS DE SECADO POR LIOFILIZACIÓN

En los estudios encontrados de SL se ha optimizado el agente encapsulante permitiendo aumentar el contenido de PT en 3-36%, AT en 2-17% y AA en 4-37%. Las temperaturas de congelación (Tc) utilizadas fueron en el rango de -18°C a -70°C. Las Tc reportadas en estos estudios obedecen a la limitada opción de configuración que poseen los equipos de laboratorio. La relación entre las variables de proceso y formulación (Tc y agente encapsulante) con las de respuesta (AT y PT) se muestra en el Gráfico 11, donde se puede observar que

los resultados tanto de AT como PT son diversos. Las variables de proceso y formulación son altamente dependientes del ERB utilizado, entre otros factores ya mencionadas en la sección 1.1.3. Además, se observa la utilización de mezclas de agentes encapsulantes mayoritariamente, debido a su mejor efecto en la optimización del contenido.

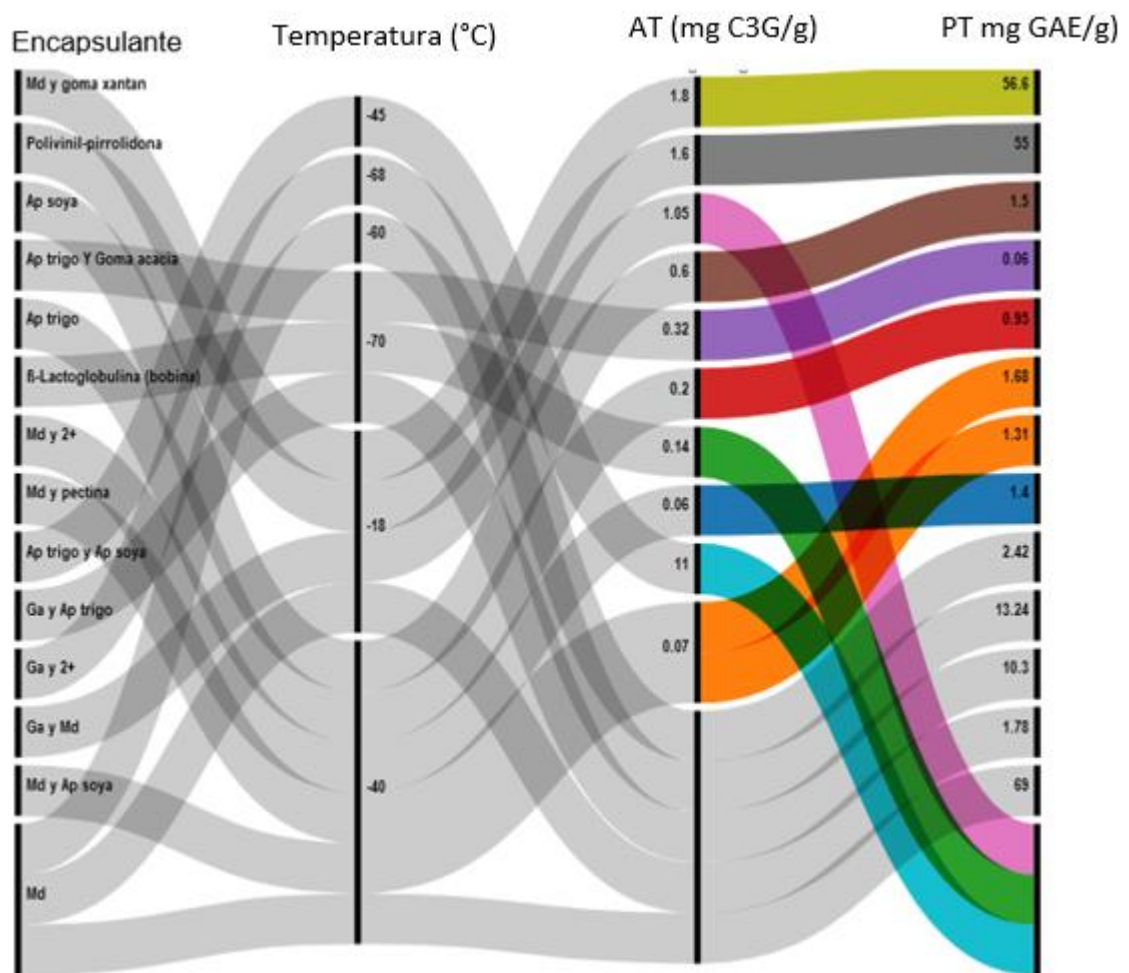


Gráfico 11 Contenido de PT (mg GAE/g) y AT (mg C3G/g) a diferentes temperaturas de congelación de en SL usando diferentes agentes encapsulantes. (Lachowicz et al., 2020); (Kuck et al, 2016); (Rezende et al., 2018); (Brown et al., 2020); (Pereira et al., 2017); (Tumbas et al., 2016); (Oancea et al., 2017); (Milea et al., 2019); (Rodríguez et al., 2018); (da Fonseca et al., 2018); (Correia et al., 2017).

Los estudios de secado por liofilización, generalmente se enfocan en el estudio de distintos agentes encapsulantes, la estabilidad de las micropartículas y aplicaciones en alimentos. En el caso de los estudios relacionados con el efecto de los agentes encapsulantes se observa que dependiendo del polímero y del tipo de polifenoles encapsulado se pueden alcanzar EE entre 65 y 95% (gráfico 12). Las mayores EE se obtuvieron usando Md, Ga y Ap soya y sus mezclas, debido a la combinación de propiedades de carbohidratos y proteínas, aspecto discutido en la sección 5.2.1. Además las proteínas permiten obtener altas EE, debido a interacciones hidrofóbicas, electrostáticas, de Vander Waals y puentes de hidrogeno con los compuestos fenólicos (Milea et al., 2019).

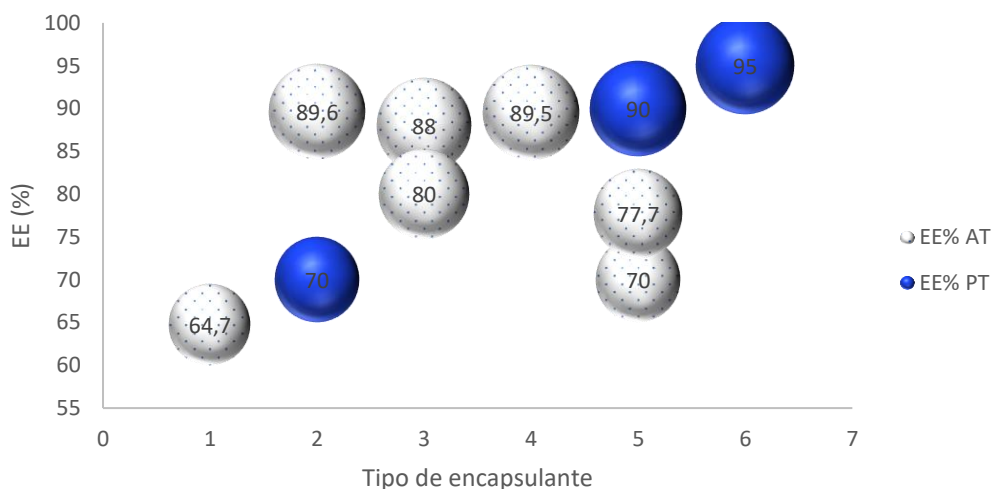


Gráfico 12 EE (%) obtenidas por SL con diferentes agentes encapsulantes. (1) β -Lactoglobulina; (2) Md y Ga; (3) Md; (4) Ga; (5) Ap trigo con otros; (6) Ap de soya. (Oancea et al., 2017); (Tumbas et al., 2017); (Rezende et al., 2018); (Stoll et al., 2016); (Rodríguez et al., 2018); (Milea et al., 2019).

Stoll et al. (2016) microencapsularon residuos de uva usando Ga y Md en diferentes proporciones, encontraron que las partículas con Ga tenían mayor AA que las de Md, pero no encontraron diferencia significativa en la EE y AT entre las partículas con diferentes encapsulantes. Estos autores estimaron que debido a la alta solubilidad de la Ga en agua y al tipo de análisis de AA (ABTS, medida en agua), la lectura estuvo influenciada por la mayor liberación de compuestos fenólicos. Por otra parte no obtuvieron pérdidas significativas (%R AT>92%) en todos los casos y reportaron altas EE(>88%). Asimismo, Tumbas *et al.* (2017) indicaron que al encapsular residuos de guindas con Ap de soya o trigo, encontraron la mayor EE en Ap soya (94%) pero no significativamente diferente a Ap trigo (90%). Dados los resultados obtenidos tanto de retenciones como EE, el método de SL se consideró un buen método de encapsulación para compuestos sensibles a la temperatura como los polifenoles.

5.3.6 OTROS MÉTODOS DE ENCAPSULACIÓN

En la encapsulación de ERB se encontraron principalmente artículos de SA y SL. Sin embargo, la literatura muestra otras metodologías importantes de revisar. Estos otros métodos menos representativos, con su porcentaje relativo se muestran en el Gráfico 13 y se describen a continuación.

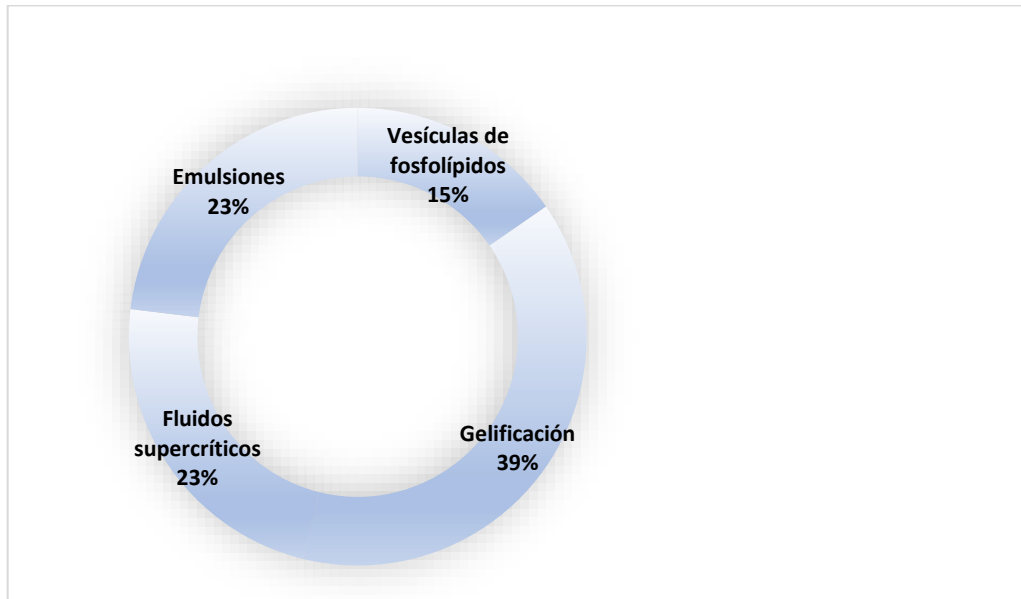


Gráfico 13 Proporción relativa del número de estudios sobre metodologías de encapsulación de RB menos frecuentes. (Constantin et al., 2021); (Lavelli et al., 2019); (Oidtmann et al., 2012); (de Cássia et al., 2021); (Bittencourt et al., 2018); (Santos et al., 2013); (da Fonseca et al., 2018); (Buratto et al., 2021); (Eisinaité et al., 2020); (Bamba et al., 2018).

5.3.6.1 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR GELIFICACIÓN IÓNICA

Los estudios encontrados en microencapsulación por gelificación iónica presentan rangos de contenidos de PT (3-36 mg GAE/g seco) y EE (68-99 %) intermedias a altas. Así por ejemplo Cássia *et al.*, (2021) evaluaron el efecto de la concentración de alginato (0,9-1,6%) y de ERB (jabuticaba) (0,6 - 3,4 ml), en el contenido de PT y EE. Encontrando el óptimo de PT (16 mg GAE/g) y EE (42%) al usar 1% de alginato y 3ml de ERB. Se observó que el contenido de PT es directamente proporcional a la concentración de ERB. Por otra parte Lavelli *et al.* (2019) microencapsularon residuos de uva (25-100ml) con alginato de sodio (1,5%) utilizando una boquilla vibratoria a 20 cm de la solución de cloruro de calcio 0,1 M, y agitación por 10 min. Encontraron que la cantidad de ERB no

afectaba la EE (68%). La EE fue afectada principalmente por la migración de polifenoles de la gota hacia la solución de Ca, previo a la gelificación y en menor grado durante el endurecimiento del hidrogel, hasta que se estableció un equilibrio entre las partículas y la solución. Dado que la mayor razón de difusión de polifenoles es en la fase liquido-liquido (antes de gelificar), más que en la fase solido-liquido (después de gelificar), la presencia de iones Ca^{+2} es muy importante, al aumentar la velocidad de gelificación y así disminuir la pérdida de polifenoles y aumentar la EE. Además, es importante revisar el rendimiento, en este sentido Bittencourt *et al.* (2018) estudiaron el efecto de las variables independientes concentración del polímero (alginato de sodio de 2,2-3,8%), concentración del activo (residuo de arándano de 0,3-3,7%) y tiempo de complejación (8-38 min), sobre el rendimiento (cambio proporcional del peso de los materiales involucrados antes y después de la microencapsulación). El rendimiento fue inversamente proporcional a la concentración del ERB. La optimización del proceso se logró con una concentración de ERB de 0,3% m/v, alginato de 3% m/v y tiempo de complejación (ZnCl_2 0,3M) de 25 min, obteniendo un %R PT (67%) y rendimiento (100%). Finalmente, en la morfología obtuvieron micropartículas esféricas con pliegues, como se observa en la figura 16. Los pliegues fueron probablemente efecto del secado, al reducir el contenido de agua (90 a 13%), lo cual es importante para la estabilidad de las partículas. Pese a que las superficies rugosas suelen ser de rápida liberación, encontraron que la difusión del activo mostro liberación controlada. En general, se observó que

dependiendo de lo que se requiera optimizar (rendimiento o contenido) convendrá usar una u otra concentración de ERB o polímero.

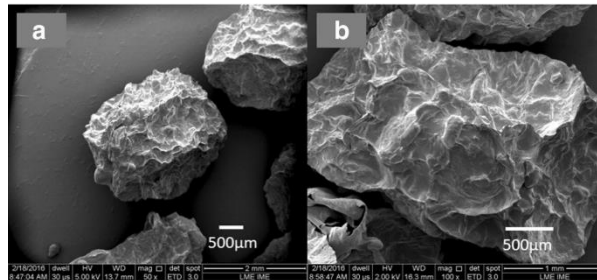


Figura 17 SEM de partículas por G1 liofilizadas; A magnificación 50x (A) y 100x (B). (Bittencourt et al., 2018)

5.3.6.2 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Se encontró un menor número de estudios usando fluidos supercríticos (FS) para la encapsulación de ERB. Santos *et al.* (2013), encapsularon residuos de Jabuticaba con polietilenglicol (PEG) por FS con CO₂ y etanol, para explorar el efecto de la temperatura (40-50 °C) y la presión de pre-expansión (10-35 Mpa) sobre la carga de extracto de antocianina, porcentaje de encapsulación (% de activo en relación a la masa final) y EE. Estos autores encontraron que el porcentaje de encapsulación solo dependió de la temperatura, a diferencia de la presión que no mostró un efecto significativo, reportando condiciones óptimas de 40 °C y 20 Mpa con un porcentaje de encapsulación de 24,7% y EE de 79,8%. Por otra parte estudiaron el efecto de la razón ERB:polietilenglicol (1:4 - 1:10) encontrando que aumentar la proporción de encapsulante, disminuyó el

porcentaje de encapsulación y EE significativamente, alcanzando el óptimo con una razón de 1:4 con valores de 28 y 80 % respectivamente. Adicionalmente, estos autores evaluaron el color y AA de las micropartículas, las que mostraron una pequeña disminución en ambos parámetros. Por otra parte Buratto *et al.* (2021) microencapsularon ERB (acaí) por FSAS Utilizando diferentes biopolímeros (pluronic F-27 y Polivinilpirrolidona (PVP)), encontrando que solo con PVP y a razones extracto:encapsulante menores o iguales a 1:2 se obtenían micropartículas con morfología de aspecto regular. Cuando estos autores evaluaron el efecto de la concentración de sólidos (2,5-5 g/L), encontraron que el mayor contenido de PT se lograba con 3,33 g/L, pero con 2,5 g/L la coprecipitación fue más eficiente y con mejor distribución, junto con una menor exposición y menor tamaño de partícula (figura 17).

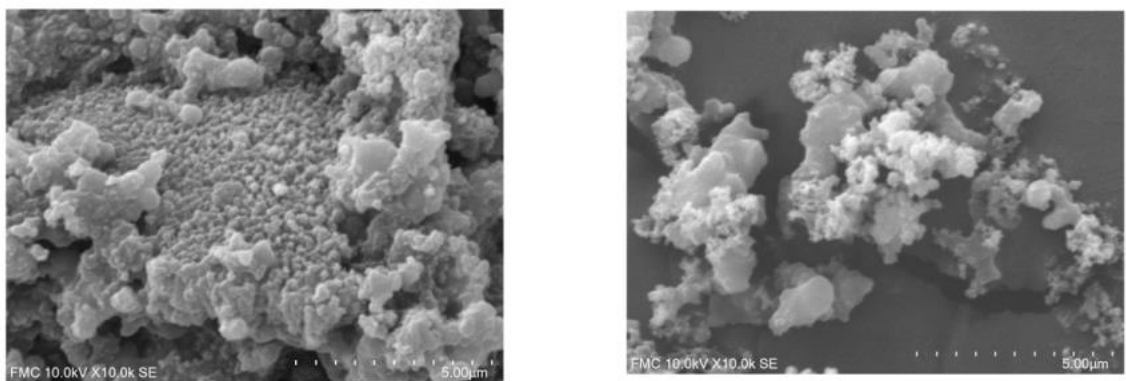


Figura 18 partículas de acaí con PVP por FSAS, razón (1:1) y concentración (3,3 y 2,5 g/L de derecha a izquierda) Buratto *et al.*, (2021)

5.3.6.3 ESTUDIOS DE MICROENCAPSULACIÓN POR EMULSIÓN

Existen escasos estudios de encapsulación de ERB mediante la elaboración de emulsiones. Eisinaité *et al.* (2020), estudiaron el efecto de la incorporación de un extracto de residuos de aronia (0,9-2,1%) en la estabilidad de emulsiones dobles elaboradas con aceite de canola, polirricinoleato de poliglicerol (PRPG) y proteína de leche. Este estudio muestra que a mayor concentración de ERB las emulsiones disminuyeron su estabilidad, probablemente por la presencia de sales y carbohidratos que aumentaron la difusividad de las moléculas de agua entre las dos fases acuosas. Por otra parte, la EE es muy importante para la estabilidad de la emulsión y la estabilidad de los polifenoles y en este caso fue de 97%. El tamaño de partícula fue de 5 a 300 μm . Este parámetro es muy variable ya que depende de la viscosidad, tipo y concentración del emulgente. Otro estudio interesante es el de Bamba *et al.* (2018) que estudiaron el efecto de la presión (50-200 Mpa) y velocidad de homogeneización (6000 a 12000 rpm) sobre las características de una emulsión elaborada con ERB. Los resultados mostraron que en condiciones de 10000 rpm por 10 min (ER arándano)/ aceite de maíz + PRPG) y luego 6000 rpm por 15 min (con la solución de Ap de trigo), seguido por microfluidización a 50 Mpa, se incrementó la EE (AT) y disminuyó el diámetro de gota y el potencial Z. La mayor EE (>80%) se alcanzaba cuando el diámetro de las gotas era relativamente pequeño (400 nm), con baja dispersabilidad y alta carga negativa de la superficie (<-40 mV).

Con estos ejemplos se espera dejar un panorama amplio de los posibles métodos de encapsulación de ERB utilizados en la actualidad, donde se observa que cada uno de ellos tiene características especiales según el tipo de ERB usado, variables de proceso y de formulación, entre otros aspectos a considerar en futuras aplicaciones de las micropartículas en alimentos. Sumado a lo anterior, es importante evaluar además el aspecto económico y el impacto ambiental que podrían tener estas tecnologías.

5.4 ESTABILIDAD DE ALMACENAMIENTO DE MICROPARTÍCULAS

Como se ha visto la microencapsulación mejora significativamente la estabilidad de los ERB, lo cual es importante dado que los polifenoles agregados a los alimentos pueden deteriorarse durante su procesamiento y almacenamiento (Eisinaité et al., 2020). La estabilidad de almacenamiento es comúnmente medida en términos de la retención de polifenoles en las MCPs a un tiempo dado, respecto al tiempo cero, por ejemplo el Gráfico 14, donde se puede ver que las micropartículas encapsuladas (almacenadas 60 días a temperatura de refrigeración) retienen un 65% más de PT, respecto a los ERB sin encapsular mostrando el efecto protector de la microencapsulación.

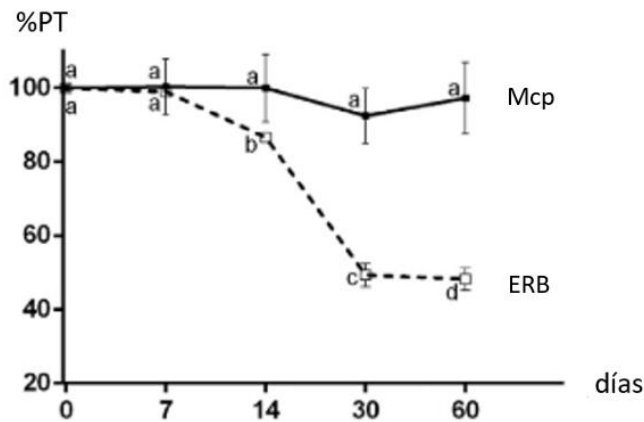


Gráfico 14 Comparación de la estabilidad a 5 °C en ERB y micropartículas de Jabuticaba-quitosano por SA (Cabral et al., 2018).

5.4.1 ESTUDIOS DE ESTABILIDAD EN MICROPARTÍCULAS DE ERB

Uno de los principales retos en las aplicaciones a matrices de alimentos, es mantener la estabilidad de los compuestos antioxidantes de RB. Existen escasos trabajos de estabilidad de partículas de antocianinas a partir de ERB, siendo la mayoría de los estudios con partículas obtenidas por SA y SL en las que generalmente se estudia la estabilidad a temperatura de refrigeración (4 °C), ambiente (25 °C) o estrés (35-55 °C), por periodos de tiempo de 1, 2 o 3 meses. Ejemplos de %R PT en esas condiciones se muestran en el Gráfico 15, donde se puede ver que la estabilidad disminuyó al aumentar el tiempo y la temperatura de almacenamiento.

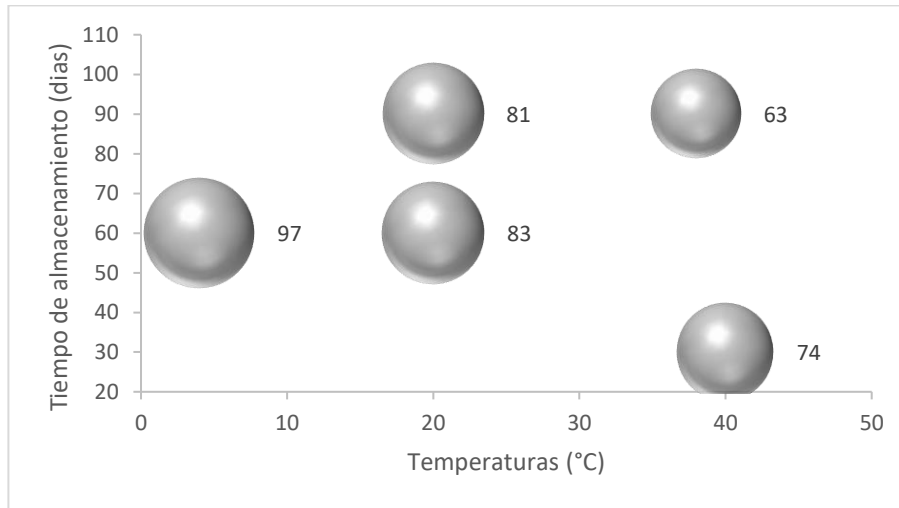


Gráfico 15 Retención de PT (%) en función del tiempo y la temperatura de partículas obtenidas por SA. (Cabral *et al.*, 2018); (Waterhouse *et al.*, 2017)

Dentro de los estudios de estabilidad, Waterhouse *et al.* (2017) evaluaron la degradación de polifenoles a partir de ERA microencapsulado por SA en un periodo de 90 días y a T_a de 20 °C y 38 °C, obteniendo una retención de PT de 81% y 63% y de AT de 88% y 73%, respectivamente. Asimismo, Cabral *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la temperatura en la estabilidad de partículas a partir de ERB (jabuticaba) por SA con quitosano, encontrando que después de 60 días de almacenamiento, tanto a temperatura de refrigeración como a temperatura ambiente, las micropartículas eran estables con una retención de polifenoles de 97 y 83% respectivamente. Un comportamiento distinto se observó a 40 °C, donde después de 30 días de almacenamiento las micropartículas solo retuvieron un 74% de sus PT y a los 60 días ya no mostraron un efecto protector. Respecto a la morfología, las partículas fueron esféricas y con rugosidades

típicas de SA que podrían permitir mayor oxidación que en superficies lisas (Figura 18). Por otra parte Tumbas *et al.* (2017) estudiaron la estabilidad de micropartículas de residuos de guindas obtenidas por SL, en un periodo de 6 semanas a 25 °C, obteniendo retenciones de PT con partículas de Ap soya y Ap trigo similares (67 y 69 % respectivamente) un comportamiento diferente observaron con el contenido de AT, con retenciones mayores al 100% usando Ap soya (148 %) y con Ap trigo (98,5 %), con la consiguiente mayor retención de AA con Ap soya (88%) respecto a Ap trigo (65%). Esta diferencia en las retenciones entre a Ap de soya y Ap de trigo puede explicarse por la mayor EE de Ap de soya (94,9%) respecto a Ap de trigo (90,1%) y a la mayor capacidad de protección de las antocianinas de la soya, por su alto contenido de proteínas.

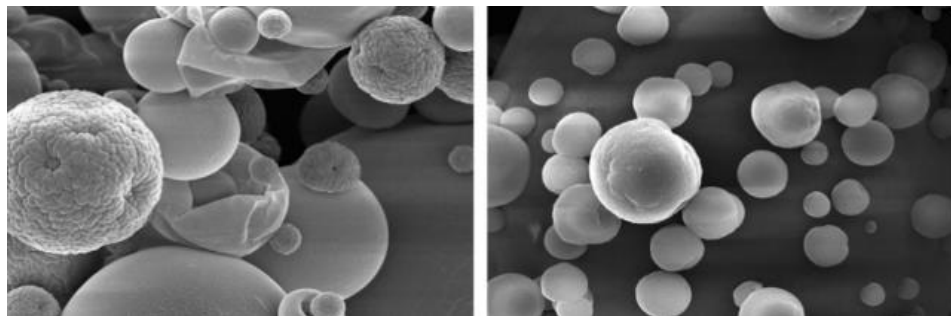


Figura 19 Foto a 5000x de Micropartículas por SA de quitosano:Jaboticaba. (Cabral *et al.*, 2018)

Por otra parte, Correia *et al.* (2017) estudiaron la degradación de antocianinas de ERA microencapsulado comparando los métodos de secado por atomización (SA) y de liofilización (SL), durante el almacenamiento a temperaturas de 4 °C y 20 °C por 16 semanas. Los resultados mostraron que la retención de

antocianinas disminuyó rápidamente las primeras dos semanas y posteriormente en forma lenta. Además, se observó que los polvos obtenidos por SA fueron más estables que los obtenidos por SL.

En este mismo sentido da Rocha *et al.* (2021) estudiaron la estabilidad acelerada de partículas de residuos de uva, por SA o SL almacenadas a diferentes temperaturas (35-55 °C) y humedad relativa (HR)(75-90%) durante 28 días (Gráfico 16). Los resultados mostraron que las MCPs obtenidas por SA (76 %R AT) fueron más estables que SL (73 %R AT). Estos autores además evaluaron el efecto de distintos agentes encapsulantes sobre la estabilidad de las antocianinas de ERB (uva) encapsuladas. En este caso, las MCPs con Ap trigo, Ga y pectina fueron más estables que aquellas con solo Ap trigo y Ga. El mayor porcentaje de retención de AT se obtuvo utilizando SA con Ap trigo, Ga y pectina almacenadas a 35 °C y 75% HR (35 %R AT a los 28 días). En SA la AA disminuyó significativamente las primeras 2 semanas, la tercera no fue significativo y la cuarta aumentó significativamente. En SL la AA disminuyó significativamente la primera y segunda semana y aumentó significativamente la cuarta semana, a excepción de las MCPs a 35 °C y 75 %HR.

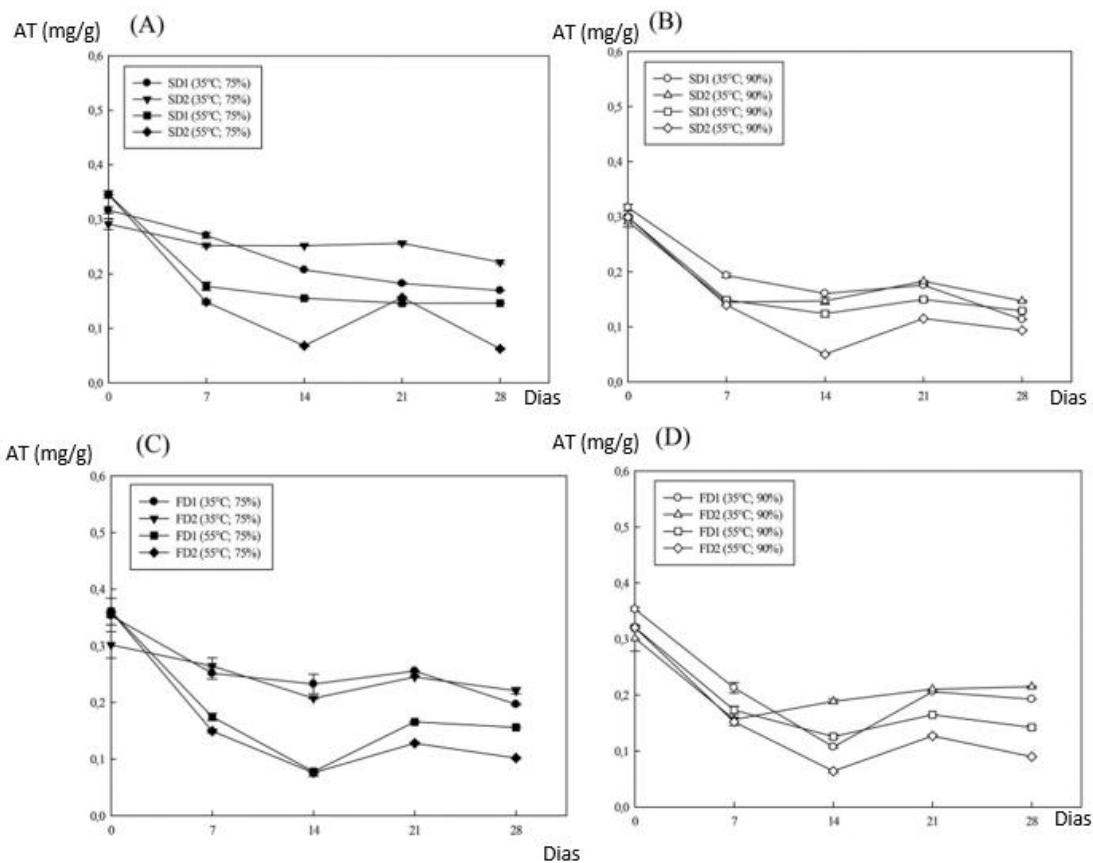


Gráfico 16 Efecto de la temperatura (35 y 55 °C) y HR (75 y 90%) sobre el contenido AT (mg malvidina 3-5 di glucósido/g), por SA (a, b) y por SL (c, d), utilizando Ap trigo-GA (1) o Ap trigo-GA A-Pec (2) como agentes encapsulantes (da Rocha et al., 2021)

Estas pérdidas de polifenoles y AA podrían explicarse por el contenido de antocianinas superficiales (sin encapsular), las cuales quedan expuestas a reacciones de hidrólisis y oxidación. El aumento de la AA se atribuye a reacciones de hidrólisis de los compuestos fenólicos conjugados. Así mismo el aumento en la AA podría deberse a interacciones de copigmentación entre antocianinas y otros compuestos fenólicos, formando compuestos más estables con mayor AA o la polimerización o hidrólisis de compuestos fenólicos o péptidos pueden

producir nuevos compuestos que compensen las pérdidas, además la desnaturalización del encapsulante como el Ap trigo que puede producir péptidos funcionales y aminoácidos con propiedades antioxidantes (da Rocha, 2021; Tumbas *et al.*, 2017).

Además entre los estudios de estabilidad de las partículas, con otros métodos de encapsulación esta: Eisinaité *et al.* (2020) estudiaron la estabilidad de partículas de aronia-Ap trigo, encapsuladas por doble emulsión seguida de SL. En estas partículas después de 60 días de almacenamiento aún existía una alta EE (fase interna acuosa de la emulsión permaneció atrapada en un 97%). La estabilidad de la emulsión se atribuyó a el poder estabilizante de la proteína de leche. Además, se observó una leve disminución de intensidad del color rojo y aumento del amarillo. Esto se podría deber a varias razones entre ellas la pérdida del catión flavilio, hidrólisis, formación de complejos de las antocianinas con compuestos fenólicos o cambios en la estructura coloidal de la emulsión. Por otra parte Constantin *et al.* (2021) probaron la estabilidad de vesículas de fosfolípidos con ERB (uva) a 4 °C, encontrando que las partículas permanecieron estables hasta por 3 meses con un cambio mínimo en el contenido de antocianinas por debajo del 10% (14 y 13 mg C3G/g polvo con lecitina de soya y pectina, respectivamente). Los resultados de estos estudios y la relación de las variables de almacenamiento se muestran mas visualmente en la figura 20. Donde se observa que la estabilidad esta influenciada por muchas variables como son la

tecnología de secado, los diferentes encapsulantes y las condiciones de temperatura de almacenamiento y tiempo.

La información descrita en esta sección muestra con claridad que la microencapsulación retarda la degradación de las antocianinas. En general, los estudios de estabilidad indican que las antocianinas de RB microencapsuladas prolongaron su estabilidad al ser sometidas a condiciones de almacenamiento acelerado, lo que sugiere que podrían utilizarse como ingredientes en la elaboración de una diversa gama de alimentos.

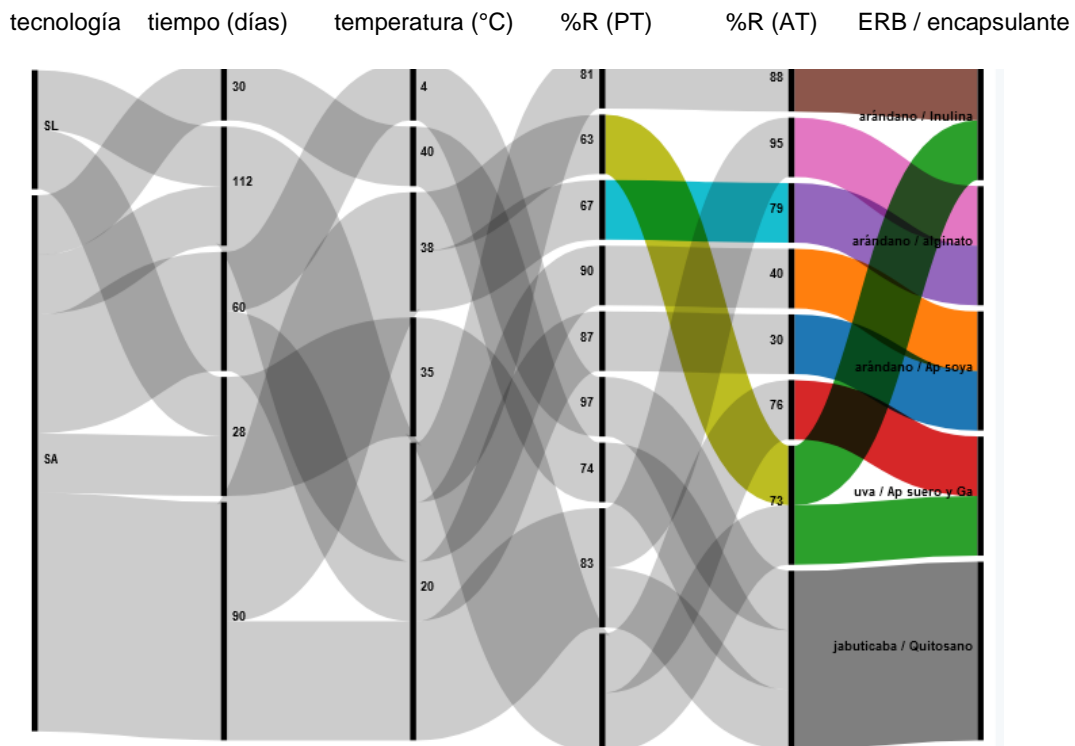


Figura 20 Relación entre las variables que afectan la estabilidad de almacenamiento de MCPs. (Waterhouse et al. 2017; Correia et al. 2017; Cabral et al. 2018; Rocha et al. 2021)

5.5 APLICACIONES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

Los RB junto con otras sustancias bioactivas son los principales ingredientes en alimentos funcionales (Eisínaité et al., 2020). En este capítulo se verá la formulación de alimentos funcionales y como algunos estudios abordan esta problemática desde el punto de vista de la estabilidad, durante la aplicación de tratamientos térmicos como el horneado y durante el almacenamiento de las matrices adicionadas con MCPs. Son estas propiedades de la encapsulación de RB, que lo hacen tan interesante como metodología en la aplicación tanto como ingrediente y como alimento funcional.

5.5.1 ESTUDIOS DE ADICIÓN DE MICROPARTÍCULAS CON ERB DURANTE EL DESARROLLO DE ALIMENTOS FUNCIONALES

Existe un reducido número de estudios sobre aplicaciones alimentarias de micropartículas de polifenoles a partir de ERB, la mayoría de ellos estudia el efecto del agente encapsulante usado en las partículas ya sea su tipo o su concentración, el efecto de la temperatura de cocción, el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento y las propiedades funcionales y sensoriales del producto. En los estudios de adición de MCPs de RB a matrices alimentarias, las cantidades de MCPs adicionadas a los alimentos rondan entre el 1 y 15%. Para estas concentraciones, obtuvieron resultados de análisis sensorial favorables en el 90% de los casos. Cuando al alimento adicionado con MCPs requería un

tratamiento térmico como parte de su preparación se observó una disminución del contenido de AT (21-93%). La pérdida de AT durante la cocción del alimento fue dependiente tanto de la temperatura de cocción, como del tipo de alimento preparado (Gráfico 17), donde se observa que la galleta protege más las AT que el chocolate aun a mayores temperaturas de cocción.

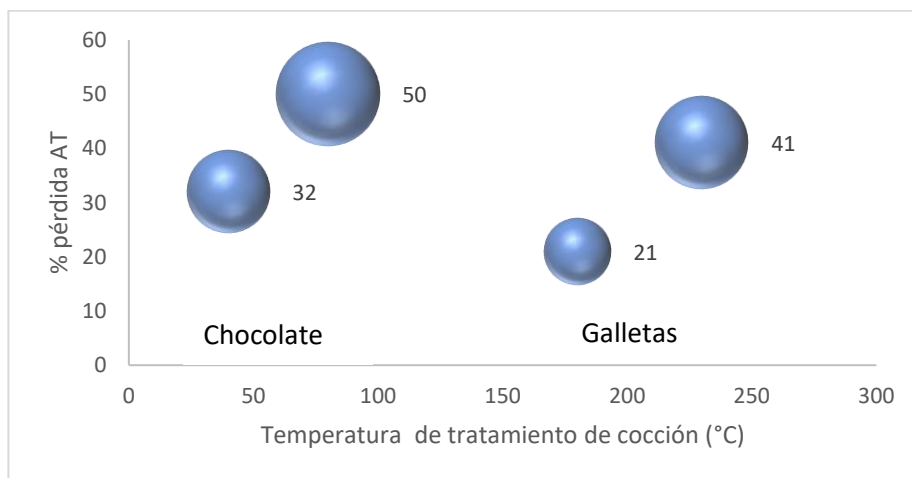


Gráfico 17 Efecto del tratamiento de cocción en chocolate y galletas, sobre el % de pérdidas de AT. (Tumbas et al., 2016); (de Cássia et al., 2021); (Gültekin et al., 2016).

Además, los estudios de estabilidad durante el almacenamiento de los alimentos adicionados con MCPs de RB, en periodos entre los 7 y 120 días, en condiciones de refrigeración y ambiente (4 y 25 °C), reportaron retenciones de PT, AT y AA en un rango de 101-142%; 32-100% y 68-91%, respectivamente. En el Gráfico 18, se puede observar la relación entre las variables de almacenamiento con la estabilidad de las antocianinas, en diferentes alimentos adicionados con MCPs de RB. La estabilidad fue determinada en términos de %R de AT y en otros casos

como cambio de color, los investigadores encontraron que la matriz afectó fuertemente la estabilidad de las AT (Milea et al., 2019). Estas y otras variables que afectan la estabilidad y aceptación sensorial durante la preparación y almacenamiento se muestran en los siguientes estudios

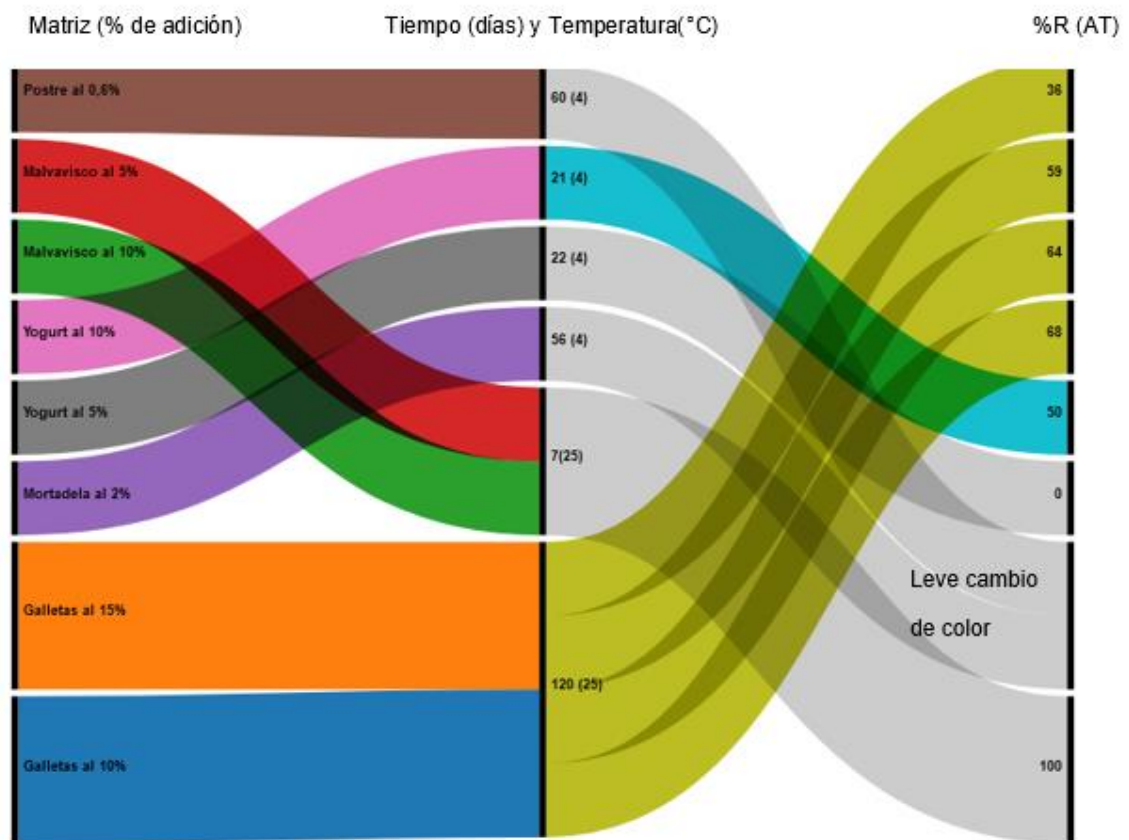


Gráfico 18 Estabilidad de AT adicionadas en diferentes matrices alimentarias, a distintos tiempos (días) y temperaturas (°C) de almacenamiento. (Tumbas et al., 2016); (Milea et al., 2019); (Rodríguez et al., 2018); (Baldin et al., 2018)

Entre las posibles aplicaciones están las bebidas en polvo o preparadas con colorantes naturales, tendencia en creciente aumento por la demanda de consumidores más conscientes, que desean cambiar de colorantes artificiales a

naturales. En este sentido West *et al.* (2013) estudiaron el uso de antocianinas a partir de residuos de uva microencapsuladas por SL, para su uso como colorante en alimentos. Los parámetros evaluados en solución fueron: pH de la solución (3 y 4 con ácido ascórbico) y temperaturas (6-40 °C), y en los polvos se evaluó la HR (43-98%). La estabilidad de las antocianinas fue inversamente proporcional al aumento de la temperatura y el pH en líquidos y a la HR en los polvos, así las antocianinas se mantuvieron estables a HR de 43% pero tuvieron altas pérdidas a HR de 75 a 98%. Con esto se confirmó además que el ácido ascórbico y las antocianinas se destruyen mutuamente, lo que implica que su uso en bebidas que son generalmente formuladas con ácido ascórbico no es recomendable. En este mismo sentido Rodrigues *et al.* (2018) estudiaron el enriquecimiento de postres maría-mole con MCPs de residuos de Jabuticaba por SL. Este estudio reportó una alta coloración del postre con 0,6% de partículas. Además se evaluó la estabilidad del color a 60 días y 4 °C, tanto del postre con ERB sin encapsular, como con ERB encapsulado (Md o Md+goma xantan (0,5%)), encontrando que la diferencia de color en los encapsulados no fue notable ($\Delta E < 5$) y en el no encapsulado si fue notorio ($\Delta E > 5$) por lo que el encapsulamiento de antocianinas a partir ERB se considera una buena alternativa de para su uso como colorante.

Otro uso es el enriquecimiento de alimentos con compuestos fenólicos, por ejemplo, adicionando vesículas de fosfolípidos con ERB (las vesículas protegen los compuestos fenólicos sensibles, además de incrementar su biodisponibilidad

y eficacia). En este sentido Constantin *et al.* (2021) formularon y caracterizaron una mayonesa con 10% de vesículas en polvo. Primero microencapsularon las antocianinas a partir extracto de residuo de uva con pectina (P), goma de acacia (A) y con Ap de suero (I) más una muestra de control con lecitina de soya (C). Seguidamente formularon la mayonesa light enriquecida con la siguiente composición: aceite de girasol (70%), yema de huevo en polvo (5%), agua (20%), limón fresco (3,5%) y sal (1,5%), luego se incorporaron los cuatro polvos de MCPs en una proporción del 10% (p/p), obteniendo 4 formulaciones: MC, MA, MP y MI con un contenido de AT de 1,41; 1,21; 1,14 y 1,36 mg C3G/g peso seco, respectivamente. Para estas mismas mayonesas, la AA fue de 5,9; 4,7; 4,1 y 4,9 mMol trolox/g peso seco, respectivamente. El análisis sensorial (uniformidad de color, consistencia, sabor y dispersabilidad) de las mayonesas mostró que todas obtuvieron una alta aceptabilidad. El color de las mayonesas fue rojo intenso, lo que se explica por la buena solubilidad de las micropartículas en la matriz evaluada. La mayonesa con 10% de partículas con goma acacia fue la más preferida por los panelistas. Basado en estos resultados ellos encontraron que la metodología de enriquecimiento con vesículas tiene un fuerte potencial como alimento funcional. En este mismo sentido de Cássia *et al.* (2021) estudiaron el efecto de la concentración del encapsulante y el extracto, en el enriquecimiento de galletas de almidón de yuca (alimento de alto consumo en Brasil), con partículas de Jabuticaba (por gelificación iónica con alginato). Primero produjeron partículas a partir de diferentes concentraciones de alginato (0,9-1,6%) y ERB (

0,6 -3,4 ml). Luego las partículas (0,1 g) fueron agregadas a la masa (44 g) a 26 °C y horneadas a 180 °C por 20 min. Observando que los mejores resultados se produjeron con las partículas con mayor concentración de alginato (1,5 y 1,6%) con pérdidas de polifenoles de 21,9% y 20,6% respectivamente y los peores resultados alcanzó un 93% pérdida de PT cuando se usó la concentración máxima de ERB. Además, se midió la AA (a los 3 tratamientos con mayor contenido de alginato) encontrando pérdidas de ABTS (21-60%) con un contenido final entre 394 y 773 μMol trolox/g. Respecto a estos contenidos de AA postratamiento térmico (galletas con MCPs de jaboticaba) los investigadores afirmaron que pese a su degradación, los contenidos de AA continúan siendo mayores a los que obtuvieron de piel de otras frutas sin tratamiento térmico. Entre los aspectos que probablemente influyeron en las pérdidas están la alta cantidad de ERB que interfirió en la unión de los grupos carboxilo de alginato con el ion calcio debilitando la estructura. El deterioro de los polifenoles en las galletas se pudo deber al cambio de temperatura, que promueve la liberación de polifenoles de la matriz al ambiente, causando su degradación. Esta liberación podría ocurrir por el colapso de los materiales cuando alcanzan la temperatura crítica o por la fusión del encapsulante al incrementar la temperatura de horneado. Otro ejemplo de enriquecimiento de galletas es el de Tumbas *et al.* (2016) que investigaron el efecto de sustituir un 10% o 15 % de la masa por MCPs (residuos de guinda : diferentes encapsulantes, 2:1), y luego estudiaron la estabilidad a 25 °C por 4 meses. Sustituyeron 10% de la masa por partículas Ap trigo (t1) o Ap soya (s1)

o con 15 % de partículas de Ap trigo (t2) o Ap soya (s2) y las hornearon 15 minutos a 230 °C. Los resultados mostraron que la aceptación sensorial fue satisfactoria en todos los casos. Al evaluar la retención de CB durante el horneado en las galletas, encontraron que en las mezclas t1, t2 y s1 el %R de AT (22, 19, y 59%, respectivamente) fue significativamente mayor al %R de PT (11, 11 y 43%, respectivamente), resaltando que durante el horneado, el trigo fue significativamente menos protector que la soya en la degradación térmica, probablemente por el alto contenido de proteína de la soya actuando como recubrimiento protector. Luego al estudiar la estabilidad a 25 °C por 4 meses, se reportó que, en los 4 tipos de galleta, t1, s1, t2 y s2, los PT aumentaron levemente (123, 142, 104, 101 %R, respectivamente) y disminuyeron las AT (68, 64, 59 y 36 %R, respectivamente) y AA (91, 76, 89 y 87 %R, respectivamente). Además, la estabilidad durante el almacenamiento de las galletas adicionadas, fueron muy superior a la retención de las galletas control (sin MCPs), que solo retuvieron el 33% de polifenoles y el 22% de AA. El aumento de polifenoles podría explicarse por la liberación de grupos hidroxilo durante la degradación de polifenoles, causando un aumento en los resultados del ensayo. Otra explicación, es la degradación de los enlaces polifenol-proteína que lo hacen más extraíble. Por otra parte, las antocianinas disminuyeron por la liberación gradual y su consecuente degradación. Respecto a la variable del % de MCPs sustituidas, las de 15% permanecieron con mayor contenido de PT que las de 10% durante el almacenamiento. Los PT para cada formulación durante el almacenamiento a

tiempo 0 y 4 meses fueron: t2 (73 y 86 mg GAE/g), s2 (50 y 63 mg GAE/g), t1 (56 y 78 mg GAE/g) y s1 (25 y 55 mg GAE/g), y la AA (DPPH) para t2 y s2 fue de 10 a 12 y de 11 a 14 μmol trolox/100 g de galleta, respectivamente. Además, los agentes encapsulantes usados influyeron en el color, obteniendo dos colores de galleta, tono rojo para trigo y tono azul para soya, debido a que las antocianinas cambian de color con el pH (medio ácido da tono rojo y medio alcalino azul) y el trigo tiene características levemente ácidas a diferencia de la soya que es levemente alcalina. El encapsulante además influyó en el sabor, siendo más intenso a guinda cuando se usaba trigo como encapsulante, y cuando se usaba soya reportaron un suave sabor residual lechoso. La apariencia superficial fue significativamente mejor usando soya, pero son más duras que con trigo. En general las matrices de galleta enriquecida obtuvieron buena aceptabilidad sensorial y una buena estabilidad durante el almacenamiento para PT, AT y AA. Sin embargo, la estabilidad durante el proceso de cocción fue baja, lo que podría explicar porque los investigadores usaron altos porcentajes de adición de MCPs, para alcanzar mayores contenidos de polifenoles cuando se sustituyó el 15%. Complementando estos estudios Petrovic *et al.* (2018) investigaron el efecto en el color y reología de la masa de galleta con 10% o 15% de partículas de guinda con diferentes encapsulantes (Ap trigo o Ap soya). La adición de partículas de soya aumentó la dureza, resistencia a la extensión y viscosidad de la masa de la galleta, mientras que la adición de partículas de trigo aumentó la suavidad y disminuyó la viscosidad, coincidiendo con Tumbas (2016) quien obtuvo galletas

más duras al usar las partículas con soya. Esta dureza de la masa depende del contenido de humedad en la masa y la capacidad de los ingredientes para retener el agua. Dado que el Ap de soya (90%, proteína) tiene la capacidad de unir cantidades importantes de agua, se explicaría el aumento de la dureza en la masa. Por otra parte, la suavidad, viscosidad y baja resistencia a la extensión de la masa, se podría explicar por la alta concentración de azúcar en las partículas de trigo, el azúcar controla la hidratación y tiende a dispersar la proteína y moléculas de almidón, previniendo la formación de una masa continua. Así mismo Gültekin *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la temperatura de conchado y pH en la fortificación de chocolate (76,8% máximo de antocianinas encapsuladas). El encapsulado fue por liposomas y secado por atomización (ERB mora-quitosano-Md), estudiando el incremento del pH (4,5, 6 y 7,5) y temperatura de conchado (40, 60 y 80 °C) y su efecto en las AT. El incremento de pH y la temperatura disminuyeron significativamente el contenido de antocianinas, pero en menor proporción que en el control (ERB SA), es decir la encapsulación mejoró la protección en todos los casos. De acuerdo con sus resultados, al aumentar la temperatura de 40 a 80 °C a pH 4,5 el % de pérdida de antocianinas aumentó de 36,8% a 60,3% en ERB SA y de 32,4% a 49,8% en los liposomas recubiertos de quitosano. Por otra parte Milea *et al.* (2019) estudiaron la estabilidad de almacenamiento en 2 matrices alimentarias yogurt y malvaviscos enriquecidos con partículas de cereza-Ap de trigo y quitosano por SL. El yogurt (*L. casei*) se evaluó por 21 días a 4 °C, tomando muestras cada 7

días. El enriquecimiento afectó el probiótico, reduciéndolo en un 15% más que el control, pero no a niveles inferiores a 6 log CFU/g a los 21 días, así que en todos los casos se consideró adecuado su uso. Este efecto reductor podría deberse a que los polifenoles tienen la capacidad de modificar selectivamente el crecimiento de los microorganismos. Al analizar la estabilidad de las AT y AA a los 21 días en yogurt, encontraron que las AT, en la muestra con 5% desaparecieron y en la de 10% se redujeron a la mitad, así mismo la AA se redujo en 32 y 29% en la muestra de 5 y 10% de partículas, respectivamente. Al contrario, al estudiar la estabilidad de AT en el malvavisco por 7 días a temperatura ambiente, las AT incrementaron y la AA se redujo en 13% (con 5% de MCPs) y 21% (con 10% de MCPs). Con esto pudieron observar que el comportamiento de las AT encapsuladas es altamente dependiente de la matriz a la que son agregadas. Finalmente, ambos alimentos mantuvieron buena AA, lo que los hace prometedores para el desarrollo de alimentos funcionales. En este mismo sentido Baldin *et al.* (2018) estudiaron la estabilidad del color en mortadela con 2% de partículas de ERB(Jabuticaba)-Md por SA durante el almacenamiento a 4 °C por 56 días. El análisis sensorial mostró una mejora significativa de la textura y el sabor, pero una leve disminución del atributo color y aroma. La estabilidad del color, las características fisicoquímicas, oxidación de lípidos, pH y microorganismos, no fueron afectadas por la adición de los polifenoles.

El análisis sensorial como se ha visto en todos los estudios es muy importante en la producción de un alimento funcional, llevando al rechazo de un alimento si

este no es aceptado. Por ejemplo, en el estudio de Torri *et al.* (2016) se realizó el análisis sensorial (21 expertos) a un queso de vaca suave enriquecido con polvos de 2 tipos de residuos de uva, a diferentes concentraciones 0,8; 1,6 y 2,4 %. Las propiedades sensoriales se afectaron fuertemente en términos de apariencia y textura. Se describió como un queso con aspecto veteado (violeta a marrón) y con una granularidad aumentada, agrio, salinidad y astringencia, además de cierta sensación vegetal y otras propiedades negativas. Dado que los resultados no fueron favorables, los autores recomendaron otras pruebas con partículas de menor tamaño y mejor dispersión en el queso, para poder enriquecerlo, sin afectar las propiedades sensoriales del producto.

Una vez se obtiene un alimento con buenas características sensoriales, contenidos de polifenoles requeridos y con estabilidad de almacenamiento suficiente para el uso determinado, se deberá evaluar otras variables como son la bioaccesibilidad y biodisponibilidad con métodos como la digestión *in vitro* y estudios clínicos, que ya no forman parte de este trabajo, y podrían ser revisadas en futuras investigaciones.

A partir de estos estudios se demuestra la producción de alimentos funcionales en base a ERB microencapsulados por diferentes tecnologías son opciones viables y atractivas para el diseño de nuevos productos.

6. CONCLUSIONES

Los polifenoles a partir de residuos de berries, se extraen principalmente utilizando tres métodos de extracción: extracción convencional con solvente, extracción con líquido presurizado y extracción con fluidos supercríticos, obteniendo extractos con similares contenidos de AT. La uva y los arándanos son los residuos más estudiados en microencapsulación, por permitir encapsular altos contenidos de polifenoles y antocianinas, como también por su disponibilidad en el mercado.

Los métodos de encapsulación de polifenoles desde extractos de residuos de berry más utilizados fueron el secado por atomización y secado por liofilización. El contenido de polifenoles y antocianinas fueron mayores en secado por atomización en comparación con secado por liofilización. Las eficiencias de encapsulación de los estudios de secado por atomización y liofilización de extractos de residuos de berries fueron similares, esto debido a que la eficiencia de encapsulación dependió en mayor medida del tipo y concentración del agente encapsulante. Las mayores eficiencias de encapsulación fueron obtenidas cuando se utilizó maltodextrina, goma arábiga, proteínas y sus mezclas, destacando la utilización de la proteína de soya.

Para la optimización de los polifenoles, antocianinas y actividad antioxidante en secado por atomización las principales variables estudiadas fueron el tipo y concentración del agente encapsulante y la temperatura de entrada del aire, y en

los estudios de secado por liofilización, fueron el tipo y concentración del agente encapsulante.

La estabilidad durante el almacenamiento de las micropartículas a partir de residuos de berries, ya sea como polvos o adicionadas en alimentos, fue superior a las estabilidades de los extractos de residuos de berries no encapsulados, demostrando que la microencapsulación de extractos de residuos de berries retarda efectivamente la degradación de los polifenoles durante el almacenamiento, y son una buena alternativa para la obtención de alimentos funcionales.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aaby, Kjersti, Stine Grimmer, and Linda Holtung. 2013. "Extraction of Phenolic Compounds from Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) Press Residue: Effects on Phenolic Composition and Cell Proliferation." *LWT - Food Science and Technology* 54 (1): 257–64. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.031>.

Aghbashlo, Mortaza, Joachim Müller, Hossien Mobli, Ashkan Madadlou, and Shahin Rafiee. 2015. "Modeling and Simulation of Deep-Bed Solar Greenhouse Drying of Chamomile Flowers." *Drying Technology* 33 (6): 684–95. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.981278>.

Avram, Alexandru M., Pauline Morin, Cindi Brownmiller, Luke R. Howard, Arijit Sengupta, and S. Ranil Wickramasinghe. 2017. "Concentrations of Polyphenols from Blueberry Pomace Extract Using Nanofiltration." *Food and Bioprocess Technology* 106: 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.07.006>.

Bajerska, Joanna, Sylwia Mildner-Szkudlarz, Paweł Górnaś, and Dalija Seglina. 2016. "The Effects of Muffins Enriched with Sour Cherry Pomace on Acceptability, Glycemic Response, Satiety and Energy Intake: A Randomized Crossover Trial." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96 (7): 2486–93. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7369>.

Bakowska-Barczak, Anna M., and Paul P. Kolodziejczyk. 2011. "Black Currant

Polyphenols: Their Storage Stability and Microencapsulation.” *Industrial Crops and Products* 34 (2): 1301–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.002>.

Bakowska-Barczak, Anna M., Andreas Schieber, and Paul Kolodziejczyk. 2009. “Characterization of Canadian Black Currant (*Ribes Nigrum* L.) Seed Oils and Residues.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (24): 11528–36. <https://doi.org/10.1021/jf902161k>.

Baldin, Juliana C, Paulo E S Munezata, Euder C Michelin, Yana J Polizer, Poliana M Silva, Thais M Canan, Manoela A Pires, et al. 2018. “Effect of Microencapsulated Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora*) Extract on Quality and Storage Stability of Mortadella Sausage.” *Food Research International* 108 (March): 551–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.076>.

Bamba, Bio Sigui Bruno, John Shi, Carole C. Tranchant, Sophia Jun Xue, Charles F. Forney, Loong Tak Lim, Weili Xu, and Guihua Xu. 2018. “Coencapsulation of Polyphenols and Anthocyanins from Blueberry Pomace by Double Emulsion Stabilized by Whey Proteins: Effect of Homogenization Parameters.” *Molecules* 23 (10). <https://doi.org/10.3390/molecules23102525>.

Barnes, Jeremy S., Hien P. Nguyen, Sijia Shen, and Kevin A. Schug. 2009. “General Method for Extraction of Blueberry Anthocyanins and Identification Using High Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Ion

Trap-Time of Flight-Mass Spectrometry.” *Journal of Chromatography A* 1216 (23): 4728–35. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.032>.

Battista, Carla Agustina Di. 2016. “Microencapsulación de Fitoesteroles Mediante Secado Por Atomización.” Universidad nacional del sur.

Beirão-da-Costa, Sara, Cláudia Duarte, Ana I. Bourbon, Ana C. Pinheiro, M. Isabel N Januário, António A. Vicente, M. Luísa Beirão-da-Costa, and Ivonne Delgado. 2013. “Inulin Potential for Encapsulation and Controlled Delivery of Oregano Essential Oil.” *Food Hydrocolloids* 33 (2): 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.009>.

Bener, Mustafa, Yixiao Shen, Reşat Apak, John W. Finley, and Zhimin Xu. 2013. “Release and Degradation of Anthocyanins and Phenolics from Blueberry Pomace during Thermal Acid Hydrolysis and Dry Heating.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (27): 6643–49. <https://doi.org/10.1021/jf401983c>.

Bensalem, Julien, Stéphanie Dudonné, Nicole Etchamendy, Hermine Pellay, Camille Amadieu, David Gaudout, Séverine Dubreuil, et al. 2019. “Polyphenols from Grape and Blueberry Improve Episodic Memory in Healthy Elderly with Lower Level of Memory Performance: A Bicentric Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Study.” *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences* 74 (7): 996–1007. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly166>.

- Bensalem, Julien, Stéphanie Dudonné, David Gaudout, Laure Servant, Frédéric Calon, Yves Desjardins, Sophie Layé, Pauline Lafenetre, and Véronique Pallet. 2018. "Polyphenol-Rich Extract from Grape and Blueberry Attenuates Cognitive Decline and Improves Neuronal Function in Aged Mice." *Journal of Nutritional Science*. <https://doi.org/10.1017/jns.2018.10>.
- Bergamasco, Rita De Cassia. 2017. "Microencapsulation of Bioactive Compounds from Blackberry Pomace (*Rubus Fruticosus*) by Spray Drying Technique," 1–11. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0047>.
- Bertolotto Blas, Antonella Fernanda. 2020. "Diseño y Evaluación de Un Modelo de Negocio Para La Producción de Etiquetas y Cajas de Vino a Partir Del Desechos Orgánico-Viníferos." *Universidad de Chile*.
- Bittencourt, Luciana Linhares de Azevedo, Kelly Alencar Silva, Valéria Pereira de Sousa, Gizele Cardoso Fontes-Sant'Ana, and Maria Helena Rocha-Leão. 2018. "Blueberry Residue Encapsulation by Ionotropic Gelation." *Plant Foods for Human Nutrition* 73 (4): 278–86. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0685-y>.
- Boekel, Martinus A.J.S. Van. 2008. "Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7 (1): 144–58. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2007.00036.x>.
- Bonfigli, M., E. Godoy, M. A. Reinheimer, and N. J. Scenna. 2017. "Comparison between Conventional and Ultrasound-Assisted Techniques for Extraction of

- Anthocyanins from Grape Pomace. Experimental Results and Mathematical Modeling.” *Journal of Food Engineering* 207: 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.011>.
- Boonchu, Thapakorn, and Niramom Utama-ang. 2015. “Optimization of Extraction and Microencapsulation of Bioactive Compounds from Red Grape (*Vitis Vinifera* L .) Pomace” 52 (February): 783–92. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1079-7>.
- Borges, Leonardo L., Frederico S. Martins, Edemilson C. Conceição, and Dâmaris Silveira. 2017. “Optimization of the Spray-Drying Process for Developing Jabuticaba Waste Powder Employing Response Surface Methodology.” *Journal of Food Process Engineering* 40 (1): 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12276>.
- Brown, Cassiano, Caciano Pelayo, and Zapata Noreña. 2020. “Microencapsulation and Controlled Release of Bioactive Compounds from Grape Pomace.” *Drying Technology* 1–15. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004>.
- Buratto, Rafaella T., Maira I. Chinchilla, María José Cocero, and Ángel Martín. 2021. “Formulation of Açaí (*E. Oleracea* Mart.) Pulp and Seeds Extracts by Co-Precipitation in Supercritical Antisolvent (SAS) Technology.” *Journal of Supercritical Fluids* 169. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105090>.
- Burin, Vívian M., Priscilla N. Rossa, Nayla E. Ferreira-Lima, Maria C. R. Hillmann,

and Marilde T. Boirdignon-Luiz. 2011. "Anthocyanins: Optimisation of Extraction from Cabernet Sauvignon Grapes, Microcapsulation and Stability in Soft Drink." *International Journal of Food Science & Technology* 46 (1): 186–93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02486.x>.

Cabral, Bruna Reis Pimenta, Paula Martins de Oliveira, Guilherme Martins Gelfuso, Tatyane de Souza Cardoso Quintão, Juliano Alexandre Chaker, Margô Gomes de Oliveira Karnikowski, and Eliana Fortes Gris. 2018. "Improving Stability of Antioxidant Compounds from *Plinia Cauliflora* (Jaboticaba) Fruit Peel Extract by Encapsulation in Chitosan Microparticles." *Journal of Food Engineering* 238 (June): 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.004>.

Cássia Sousa Mendes, Dianiny de, Eduardo Ramirez Asquieri, Rayssa Dias Batista, Cleiber Cintra de Moraes, Diego Palmiro Ramirez Ascheri, Isaac Yves Lopes de Macêdo, and Eric de Souza Gil. 2021. "Microencapsulation of Jaboticaba Extracts (*Myrciaria Cauliflora*): Evaluation of Their Bioactive and Thermal Properties in Cassava Starch Biscuits." *LWT* 137 (September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110460>.

Castagnini, Juan. 2014. *Estudio Del Proceso de Obtención de Zumo de Arándanos y Su Utilización Como Ingrediente Para La Obtención de Un Alimento Funcional Por Impregnación a Vacío*. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/38988>.

- Christian Stevens, Alessia Meriggi, and Karl Booten. 2001. "Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications Christian" 2 (1): 1–16.
- CIREN. 2017. "Información De Avance Proyecto: Lechuga Zonificación." <https://www.ciren.cl/wp-content/uploads/2017/12/Lechuga.pdf>.
- Claudio, Ricardo, Jessica Najera, and Stalin Santacruz. 2012. "Evaluación de La Actividad Antioxidante de Vaccinium Floribundum Sometido a Tratamiento Térmico." *Vitae* 19 (1): S352–54.
- Constantin, Oana Emilia, Nicoleta Stănciuc, Yinzhao Yan, Ioana Otilia Ghinea, Claudia Ungureanu, Adrian Cîrciumaru, Deliang Wang, Natasa Poklar Ulrih, and Gabriela Râpeanu. 2021. "Polymers and Protein-Associated Vesicles for the Microencapsulation of Anthocyanins from Grape Skins Used for Food Applications." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 101 (7): 2676–86. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10892>.
- Corrêa-Filho, Luiz C., Margarida Moldão-Martins, and Vitor D. Alves. 2019. "Advances in the Application of Microcapsules as Carriers of Functional Compounds for Food Products." *Applied Sciences (Switzerland)* 9 (3). <https://doi.org/10.3390/app9030571>.
- Correia, Roberta, Mary H. Grace, Debora Esposito, and Mary Ann Lila. 2017. "Wild Blueberry Polyphenol-Protein Food Ingredients Produced by Three Drying Methods: Comparative Physico-Chemical Properties, Phytochemical

Content, and Stability during Storage.” *Food Chemistry* 235: 76–85.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.042>.

Ćujić-Nikolić, Nada, Nemanja Stanisavljević, Katarina Šavikin, Ana Kalušević, Viktor Nedović, Jelena Samardžić, and Teodora Janković. 2019. “Chokeberry Polyphenols Preservation Using Spray Drying: Effect of Encapsulation Using Maltodextrin and Skimmed Milk on Their Recovery Following in Vitro Digestion.” *Journal of Microencapsulation* 36 (8): 693–703.
<https://doi.org/10.1080/02652048.2019.1667448>.

Eisinaitė, Viktorija, Daiva Leskauskaitė, Milda Pukalskienė, and Petras Rimantas Venskutonis. 2020. “Freeze-Drying of Black Chokeberry Pomace Extract–Loaded Double Emulsions to Obtain Dispersible Powders.” *Journal of Food Science* 85 (3): 628–38. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14995>.

Fatnassi, Mohamed, Corine Tourné-Péteilh, Pradial Peralta, Thomas Cacciaguerra, Philippe Dieudonné, Jean Marie Devoisselle, and Bruno Alonso. 2013. “Encapsulation of Complementary Model Drugs in Spray-Dried Nanostructured Materials.” *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 68 (2): 307–16. <https://doi.org/10.1007/s10971-013-3170-y>.

Flores, Floirendo P., Rakesh K. Singh, William L. Kerr, Ronald B. Pegg, and Fanbin Kong. 2014. “Total Phenolics Content and Antioxidant Capacities of Microencapsulated Blueberry Anthocyanins during in Vitro Digestion.” *Food Chemistry* 153: 272–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.063>.

Flores, Floirendo P., Rakesh K. Singh, William L. Kerr, Dennis R. Phillips, and Fanbin Kong. 2015. "In Vitro Release Properties of Encapsulated Blueberry (*Vaccinium Ashei*) Extracts." *Food Chemistry* 168: 225–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.059>.

Fonseca Machado, Ana Paula da, Camila Alves Rezende, Rodney Alexandre Rodrigues, Gerardo Fernández Barbero, Paulo de Tarso Vieira e Rosa, and Julian Martínez. 2018. "Encapsulation of Anthocyanin-Rich Extract from Blackberry Residues by Spray-Drying, Freeze-Drying and Supercritical Antisolvent." *Powder Technology* 340: 553–62. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.063>.

Gharsallaoui, Adem, Gaëlle Roudaut, Odile Chambin, Andrée Voilley, and Rémi Saurel. 2007. "Applications of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview." *Food Research International* 40 (9): 1107–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>.

Guijarro-Fuertes, Michelle, Maria Jose Andrade-Cuvi, Juan Bravo-Vásquez, Luis Ramos-Guerrero, and Maria Gabriela Vernaza. 2019. "Andean Blueberry (*Vaccinium Floribundum*) Bread: Physicochemical Properties and Bioaccessibility of Antioxidants." *Food Science and Technology* 39: 56–62. <https://doi.org/10.1590/fst.30317>.

Gültekin-Özgülven, Mine, Ayşe Karadağ, Şeyma Duman, Burak Özkal, and Beraat Özçelik. 2016. "Fortification of Dark Chocolate with Spray Dried Black

- Mulberry (*Morus Nigra*) Waste Extract Encapsulated in Chitosan-Coated Liposomes and Bioaccessability Studies.” *Food Chemistry* 201: 205–12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.091>.
- Haining, Zhang, and Ma Yongkun. 2017. “Optimisation of High Hydrostatic Pressure Assisted Extraction of Anthocyanins from Rabbiteye Blueberry Pomace.” *Czech Journal of Food Sciences* 35 (No. 2): 180–87. <https://doi.org/10.17221/189/2016-cjfs>.
- He, Bo, Ling Li Zhang, Xue Yang Yue, Jin Liang, Jun Jiang, Xue Ling Gao, and Peng Xiang Yue. 2016. “Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Anthocyanins from Blueberry (*Vaccinium Ashei*) Wine Pomace.” *Food Chemistry* 204: 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094>.
- Herrera, Pablo. 2012. “Perspectiva Del Arándano Procesado En Chile.”
- Hoskin, Roberta Targino, Jia Xiong, and Mary Ann Lila. 2019. “Comparison of Berry Juice Concentrates and Pomaces and Alternative Plant Proteins to Produce Spray Dried Protein-Polyphenol Food Ingredients.” *Food and Function* 10 (10): 6286–99. <https://doi.org/10.1039/c9fo01587f>.
- Huang, Dejian, O. U. Boxin, and Ronald L. Prior. 2005. “The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (6): 1841–56. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>.

Huang, Yongxia, Siyuan Zhou, Guohua Zhao, and Fayin Ye. 2021. "Destabilisation and Stabilisation of Anthocyanins in Purple-Fleshed Sweet Potatoes: A Review." *Trends in Food Science and Technology* 116 (March): 1141–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.013>.

Ibrahim Silva, Pollyanna, Paulo Cesar Stringheta, Reinaldo Francisco Teofilo, and Isadora Rebouças Nolasco De Oliveira. 2013. "Parameter Optimization for Spray-Drying Microencapsulation of Jaboticaba (*Myrciaria Jaboticaba*) Peel Extracts Using Simultaneous Analysis of Responses." *Journal of Food Engineering* 117 (4): 538–44. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>.

Ikuta, Kazufumi, Katsumi Mizuta, and Tatsuo Suzutani. 2013. "Anti-Influenza Virus Activity of Two Extracts of the Blackcurrant (*Ribes Nigrum* L.) from New Zealand and Poland." *Fukushima Journal of Medical Science* 59 (1): 35–38. <https://doi.org/10.5387/fms.59.35>.

Jafari, Seid Mahdi, Elham Assadpoor, Yinghe He, and Bhesh Bhandari. 2008. "Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying." *Drying Technology* 26 (7): 816–35. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>.

Jara-Palacios, M. José, Adela Santisteban, Belén Gordillo, Dolores Hernanz, Francisco J. Heredia, and M. Luisa Escudero-Gilete. 2019. "Comparative Study of Red Berry Pomaces (Blueberry, Red Raspberry, Red Currant and Blackberry) as Source of Antioxidants and Pigments." *European Food*

Research and Technology 245 (1). <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3135-z>.

Jiménez-Aguilar, D. M., A. E. Ortega-Regules, J. D. Lozada-Ramírez, M. C.I. Pérez-Pérez, E. J. Vernon-Carter, and J. Welti-Chanes. 2011. "Color and Chemical Stability of Spray-Dried Blueberry Extract Using Mesquite Gum as Wall Material." *Journal of Food Composition and Analysis* 24 (6): 889–94. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.04.012>.

Joshi, Snehal S., Amy B. Howell, and Doris H. D'Souza. 2019. "Antiviral Effects of Blueberry Proanthocyanidins against Aichi Virus." *Food Microbiology* 82 (February): 202–8. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.001>.

Justo, Alicia M, and Silvia Mussari. 2014. "La Innovación Tecnológica de Procesos Agroindustriales En." *Asociación Argentina de Economía Agraria*, no. 2.

Kalušević, Ana M., Steva M. Lević, Bojan R. Čalija, Jela R. Milić, Vladimir B. Pavlović, Branko M. Bugarski, and Viktor A. Nedović. 2017. "Effects of Different Carrier Materials on Physicochemical Properties of Microencapsulated Grape Skin Extract." *Journal of Food Science and Technology* 54 (11): 3411–20. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2790-6>.

Karam, Marie Céleste, Jeremy Petit, David Zimmer, Elie Baudelaire Djantou, and Joël Scher. 2016. "Effects of Drying and Grinding in Production of Fruit and Vegetable Powders: A Review." *Journal of Food Engineering* 188: 32–49.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.001>.

Kitrytė, Vaida, Darius Povilaitis, Vaida Kraujalienė, Vaida Šulniūtė, Audrius Pukalskas, and Petras Rimantas Venskutonis. 2017. "Fractionation of Sea Buckthorn Pomace and Seeds into Valuable Components by Using High Pressure and Enzyme-Assisted Extraction Methods." *LWT - Food Science and Technology* 85: 534–38. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.041>.

Klavins, Linards, Jorens Kviesis, Ilva Nakurte, and Maris Klavins. 2018. "Berry Press Residues as a Valuable Source of Polyphenolics: Extraction Optimisation and Analysis." *Lwt* 93: 583–91. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.021>.

Klinger, Dane, and Rosamond Naylor. 2012. "Searching for Solutions in Aquaculture: Charting a Sustainable Course." *Annual Review of Environment and Resources* 37 (1): 247–76. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-021111-161531>.

Kołodziejczyk, Krzysztof, Michał Sójka, Maribel Abadias, Inmaculada Viñas, Sylvain Guyot, and Alain Baron. 2013. "Polyphenol Composition, Antioxidant Capacity, and Antimicrobial Activity of the Extracts Obtained from Industrial Sour Cherry Pomace." *Industrial Crops and Products* 51: 279–88. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.030>.

Kraujalis, Paulius, Vaida Kraujalienė, Rita Kazernavičiūtė, and Petras Rimantas Venskutonis. 2017. "Supercritical Carbon Dioxide and Pressurized Liquid

Extraction of Valuable Ingredients from Viburnum Opulus Pomace and Berries and Evaluation of Product Characteristics.” *Journal of Supercritical Fluids* 122: 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.12.008>.

Kropat, Christopher, Michael Betz, Ulrich Kulozik, Sabine Leick, Heinz Rehage, Ute Boettler, Nicole Teller, and Doris Marko. 2013. “Effect of Microformulation on the Bioactivity of an Anthocyanin-Rich Bilberry Pomace Extract (*Vaccinium Myrtillus* L.) in Vitro.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (20): 4873–81. <https://doi.org/10.1021/jf305180j>.

Kuck, Luiza Siede, and Caciano Pelayo Zapata Noreña. 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: 569–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>.

Kuck, Luiza Siede, and Caciano Pelayo Zapata Noreña. 2019. “Application of Gum Arabic, β -Cyclodextrin, and Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin to Microencapsulation by Molecular Inclusion of Grape Skin Extract (*Vitis Labrusca* Var. Isabel).” *Journal of Food Processing and Preservation* 43 (2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13874>.

Laaksonen, Oskar, Mari Sandell, Riikka Järvinen, and Heikki Kallio. 2011. “Orosensory Contributing Compounds in Crowberry (*Empetrum Nigrum*) Press-Byproducts.” *Food Chemistry* 124 (4): 1514–24.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.005>.

Lachowicz, Sabina, Anna Michalska Ciechanowska, and Oszmianski. Jan. 2020.

“The Impact of Maltodextrin and Inulin on the Protection of Natural Antioxidants in Powders Made.” *Molecules*, 1–20.

<https://doi.org/doi:10.3390/molecules25081805>.

Lavelli, V., and P. S.C. Sri Harsha. 2019. “Microencapsulation of Grape Skin

Phenolics for PH Controlled Release of Antglycation Agents.” *Food Research International* 119 (July 2018): 822–28.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.065>.

Lavelli, Vera, Pedapati S C Sri Harsha, Monica Laureati, and Ella Pagliarini. 2017.

“Degradation Kinetics of Encapsulated Grape Skin Phenolics and Micronized Grape Skins in Various Water Activity Environments and Criteria to Develop Wide-Ranging and Tailor-Made Food Applications.” *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 39: 156–64.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.006>.

Lee, J., and R. E. Wrolstad. 2004. “Extraction of Anthocyanins and Polyphenolics

from Blueberry-Processing Waste.” *Journal of Food Science* 69 (7): 564–73.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13651.x>.

Lee, Sung Je, and Marie Wong. 2014. “Nano- and Microencapsulations of Food

Ingredients.” *Nano-and Microencapsulation for Foods*, 48.

Leichtweis, Maria G., Carla Pereira, M. A. Prieto, Maria Filomena Barreiro, Ilton José Baraldi, Lillian Barros, and Isabel C.F.R. Ferreira. 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>.

Lim, Kar, Mitzi Ma, and Kirk D. Dolan. 2011. "Effects of Spray Drying on Antioxidant Capacity and Anthocyanidin Content of Blueberry By-Products." *Journal of Food Science* 76 (7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02286.x>.

Lu, Yushuang, Xianrui Liang, Lishuang Cheng, and Sheng Fang. 2020. "Microencapsulation of Pigments by Directly Spray-Drying of Anthocyanins Extracts from Blueberry Pomace: Chemical Characterization and Extraction Modeling." *International Journal of Food Engineering* 16 (3): 1–10. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2019-0247>.

Luchese, Cláudia Leites, Jone Uranga, Jordana Corralo Spada, Isabel Cristina Tessaro, and Koro de la Caba. 2018. "Valorisation of Blueberry Waste and Use of Compression to Manufacture Sustainable Starch Films with Enhanced Properties." *International Journal of Biological Macromolecules* 115 (2017): 955–60. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.162>.

Machado, Ana Paula Da Fonseca, Ana Luiza Duarte Pereira, Gerardo Fernández

Barbero, and Julian Martínez. 2017. "Recovery of Anthocyanins from Residues of *Rubus Fruticosus*, *Vaccinium Myrtillus* and *Eugenia Brasiliensis* by Ultrasound Assisted Extraction, Pressurized Liquid Extraction and Their Combination." *Food Chemistry* 231: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.060>.

Markets, Research and. 2019. "Fresh Berries Market - Growth, Trends, and Forecast (2019 - 2024)." ID: 4771888, 2019. https://www.researchandmarkets.com/reports/4771888/fresh-berries-market-growth-trends-and?utm_source=CI&utm_medium=PressRelease&utm_code=3lp55k&utm_campaign=1274598++The+World+Market+for+Fresh+Berries+to+2024++Asia-Pacific+Leads+the+Consumption+of+Fresh.

Mattivi, Fulvio, Christian Zulian, Giorgio Nicolini, and Leonardo Valenti. 2002. "Wine, Biodiversity, Technology, and Antioxidants." *Annals of the New York Academy of Sciences* 957: 37–56. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02904.x>.

Mayer-Miebach, Esther, Marta Adamiuk, and Diana Behnlian. 2012. "Stability of Chokeberry Bioactive Polyphenols during Juice Processing and Stabilization of a Polyphenol-Rich Material from the by-Product." *Agriculture (Switzerland)* 2 (3): 244–58. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030244>.

Meng, Xian Jun, Jia Chen Zhang, and Bin Li. 2014. "Optimization of Anthocyanins

Extraction from Blueberry Pomace by Spray-Drying Process by Response Surface Methodology.” *Advanced Materials Research* 1033–1034: 709–12. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1033-1034.709>.

Milea, Adelina Stefania, Aida Mihaela Vasile, Adrian Cîrciumaru, Loredana Dumitrascu, Vasilica Barbu, Gabriela Râpeanu, Gabriela Elena Bahrim, and Nicoleta Stanciuc. 2019. “Valorizations of Sweet Cherries Skins Phytochemicals by Extraction, Microencapsulation and Development of Value-Added Food Products.” *Foods* 8 (6): 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods8060188>.

Mourtzinos, Ioannis, and Athanasia Goula. 2019. *Polyphenols in Agricultural Byproducts and Food Waste. Polyphenols in Plants*. 2nd ed. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00002-5>.

Munin, Aude, and Florence Edwards-Lévy. 2011. *Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. Pharmaceutics*. Vol. 3. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3040793>.

Neto, Catherine C. 2007. “Cranberry and Blueberry: Evidence for Protective Effects against Cancer and Vascular Diseases.” *Molecular Nutrition and Food Research* 51 (6): 652–64. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600279>.

Oancea, Ana-maria, Iuliana Aprodu, Ioana Otilia, Vasilica Barbu, Gabriela Bahrim, and R Gabriela. 2017. “A Bottom-up Approach for Encapsulation of Sour Cherries Anthocyanins by Using β -Lactoglobulin as Matrices” 210.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.033>.

Oancea, Ana-maria, Mahadi Hasan, Aida Mihaela, Vasilica Barbu, Elena Enachi, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, Stefania Silvi, and Nicoleta St. 2018. "Functional Evaluation of Microencapsulated Anthocyanins from Sour Cherries Skins Extract in Whey Proteins Isolate." *Food Science and Technology* 95 (April): 129–34. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.083>.

Oancea, Ana Maria, Mahadi Hasan, Aida Mihaela Vasile, Vasilica Barbu, Elena Enachi, Gabriela Bahrim, Gabriela Râpeanu, Stefania Silvi, and Nicoleta Stănciuc. 2018. "Functional Evaluation of Microencapsulated Anthocyanins from Sour Cherries Skins Extract in Whey Proteins Isolate." *Lwt* 95 (January): 129–34. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.083>.

ODEPA. 2018. "Benchmarking, Identificación y Caracterización de Pérdidas de Materia Prima En La Industria y Cadena de Valor. Identificación de Posibles Soluciones." Vol. parte 1. https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2019/03/EstudioFruticulturaOrganica2018_1.pdf.

ODEPA. 2019. "Boletín de Frutas y Hortalizas Procesadas." *Marzo*, 1–18. www.odepa.cl/precios/boletin-de-frutas-y-hortalizas-en-terminales/.

ODEPA. 2020. "Reporte de Cosechas y Exportaciones 2020."

Oidtman, Johannes, Markus Schantz, Karsten Mäder, Matthias Baum, Sonja Berg, Michael Betz, Ulrich Kulozik, et al. 2012. "Preparation and Comparative

Release Characteristics of Three Anthocyanin Encapsulation Systems.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (3): 844–51. <https://doi.org/10.1021/jf2047515>.

Oliveira, Beatriz E., Paulo C.G. Junior, Lilian P. Cilli, Luana R.F. Contini, Anna C. Venturini, Cristiana M.P. Yoshida, and Matheus B. Braga. 2018. “Spray-Drying of Grape Skin-Whey Protein Concentrate Mixture.” *Journal of Food Science and Technology* 55 (9): 3693–3702. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3299-3>.

Ospina, Mónica, Katherine Montaña-Oviedo, Álvaro Díaz-Duque, Heiner Toloza-Daza, and Carlos Eduardo Narváez-Cuenca. 2019. “Utilization of Fruit Pomace, Overripe Fruit, and Bush Pruning Residues from Andes Berry (*Rubus Glaucus* Benth) as Antioxidants in an Oil in Water Emulsion.” *Food Chemistry* 281 (October 2018): 114–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.087>.

Ozkan, Gulay, Paola Franco, Iolanda De Marco, Jianbo Xiao, and Esra Capanoglu. 2019a. “A Review of Microencapsulation Methods for Food Antioxidants: Principles, Advantages, Drawbacks and Applications.” *Food Chemistry* 272 (July 2018): 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>.

Paes, Juliana, Raquel Dotta, and Julian Martínez. 2013. “Extraction of Phenolic Compounds from Blueberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) Residues Using

Supercritical CO₂ and Pressurized Water,” 1–10.

Pap, Nora, Sándor Beszédes, Eva Pongrácz, Liisa Myllykoski, Miklòsnè Gábor, Erno Gyimes, Cecília Hodúr, and Riitta L. Keiski. 2013. “Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanins from Black Currant Marc.” *Food and Bioprocess Technology* 6 (10): 2666–74. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0964-9>.

Park, Yoen Ju, Ronita Biswas, Robert Dixon Phillips, and Jinru Chen. 2011. “Antibacterial Activities of Blueberry and Muscadine Phenolic Extracts.” *Journal of Food Science* 76 (2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01974.x>.

Pasquel Reátegui, José Luis, Ana Paula Da Fonseca Machado, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, and Julian Martínez. 2014. “Extraction of Antioxidant Compounds from Blackberry (*Rubus* Sp.) Bagasse Using Supercritical CO₂ Assisted by Ultrasound.” *Journal of Supercritical Fluids* 94: 223–33. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.019>.

Pereira Souza, Ana Cardinale, Poliana Deyse Gurak, and Ligia Damasceno Ferreira Marczak. 2017. “Maltodextrin, Pectin and Soy Protein Isolate as Carrier Agents in the Encapsulation of Anthocyanins-Rich Extract from Jaboticaba Pomace.” *Food and Bioproducts Processing* 102: 186–94. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.12.012>.

Pertuzatti, Paula Becker, Milene Teixeira Barcia, Daniele Rodrigues, Pollyanna Nogueira Da Cruz, Isidro Hermosín-Gutiérrez, Robert Smith, and Helena

Teixeira Godoy. 2014. "Antioxidant Activity of Hydrophilic and Lipophilic Extracts of Brazilian Blueberries." *Food Chemistry* 164: 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.114>.

Petrovic, Jovana, Biljana Pajin, Ivana Lončarevic, Vesna Tumbas Saponjac, Ivana Nikolic, Đurdica Ackar, and Danica Zaric. 2018. "Encapsulated Sour Cherry Pomace Extract: Effect on the Colour and Rheology of Cookie Dough." *Food Science and Technology International* 25 (2): 130–40. <https://doi.org/10.1177/1082013218802027>.

ProChile. 2017. "Vinos Orgánicos: Mercado Internacional," 12.

ProCHile, Direcon. 2017. "Berries Orgánicos Mercado Internacional Estudio ENEXPRO."

Rattes, Alysson Leandro Ribeiro, and Wanderley Pereira Oliveira. 2007. "Spray Drying Conditions and Encapsulating Composition Effects on Formation and Properties of Sodium Diclofenac Microparticles." *Powder Technology* 171 (1): 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2006.09.007>.

Rezende, Yara Rafaella Ribeiro Santos, Juliete Pedreira Nogueira, and Narendra Narain. 2018. "Microencapsulation of Extracts of Bioactive Compounds Obtained from Acerola (*Malpighia Emarginata* DC) Pulp and Residue by Spray and Freeze Drying: Chemical, Morphological and Chemometric Characterization." *Food Chemistry* 254 (January): 281–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>.

- Rezvankhah, Amir, Zahra Emam-Djomeh, and Gholamreza Askari. 2020. "Encapsulation and Delivery of Bioactive Compounds Using Spray and Freeze-Drying Techniques: A Review." *Drying Technology* 38 (1–2): 235–58. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>.
- Rigon, Renata Trindade, and Caciano P. Zapata Noreña. 2016. "Microencapsulation by Spray-Drying of Bioactive Compounds Extracted from Blackberry (*Rubus Fruticosus*)." *Journal of Food Science and Technology* 53 (3): 1515–24. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2111-x>.
- Robert, Paz, and Carolina Fredes. 2015. "The Encapsulation of Anthocyanins from Berry-Type Fruits. Trends in Foods." *Molecules* 20 (4): 5875–88. <https://doi.org/10.3390/molecules20045875>.
- Robert, Paz, Paula García, Natalia Reyes, Jorge Chávez, and José Santos. 2012. "Acetylated Starch and Inulin as Encapsulating Agents of Gallic Acid and Their Release Behaviour in a Hydrophilic System." *Food Chemistry* 134 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.019>.
- Rocha, Cassiano Brown da, and Caciano Pelayo Zapata Noreña. 2021. "Microencapsulation and Controlled Release of Bioactive Compounds from Grape Pomace." *Drying Technology* 39 (8): 1018–32. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004>.
- Rodrigues, Letícia M., Suelen S. Dos Santos, Rita C. Bergamasco, and Grasiela S. Madrona. 2018. "Jaboticaba Byproduct Encapsulation by Lyophilization:

PH and Food Application Stability.” *Journal of Food Process Engineering* 41 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12639>.

Roos, Yrjö H, and Yoav D Livney. 2017. *Food Engineering Series Engineering Foods for Bioactives Stability and Delivery*. Edited by USA Gustavo V. Barbosa-Cánovas, Washington State University and Advisory. <http://www.springer.com/series/5996>.

Santana Méridas, Omar, Azucena González Coloma, and Raúl Sánchez Vioque. 2012. “Agricultural Residues as a Source of Bioactive Natural Products.” *Phytochemistry Reviews* 11 (4): 447–66. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9266-0>.

Santos, Diego T., Juliana Q. Albarelli, Marisa M. Beppu, and Maria Angela A. Meireles. 2013. “Stabilization of Anthocyanin Extract from Jaboticaba Skins by Encapsulation Using Supercritical CO₂ as Solvent.” *Food Research International* 50 (2): 617–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.019>.

Santos, S S, L M Rodrigues, S C Costa, and G S Madrona. 2019. “Antioxidant Compounds from Blackberry (*Rubus Fruticosus*) Pomace : Microencapsulation by Spray-Dryer and PH Stability Evaluation ☆.” *Food Packaging and Shelf Life* 20 (December 2017): 100177. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.001>.

Santos, Suelen Siqueira Dos, Carolina Moser Paraíso, and Grasielle Scaramal

Madrona. 2020. "Blackberry Pomace Microspheres: An Approach on Anthocyanin Degradation." *Ciencia e Agrotecnologia* 44: 1–9. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044014420>.

Schmidt, Carolin, Insa Geweke, Susanne Struck, Susann Zahn, and Harald Rohm. 2018. "Blackcurrant Pomace from Juice Processing as Partial Flour Substitute in Savoury Crackers: Dough Characteristics and Product Properties." *International Journal of Food Science and Technology* 53 (1): 237–45. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13639>.

Schoubben, Aurélie, Paolo Blasi, Stefano Giovagnoli, Carlo Rossi, and Maurizio Ricci. 2010. "Development of a Scalable Procedure for Fine Calcium Alginate Particle Preparation." *Chemical Engineering Journal* 160 (1): 363–69. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.02.062>.

Skrovankova, Sona, Daniela Sumczynski, Jiri Mlcek, Tunde Jurikova, and Jiri Sochor. 2015. "Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries." *International Journal of Molecular Sciences* 16 (10): 24673–706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>.

Sójka, Michał, Krzysztof Kołodziejczyk, and Joanna Milala. 2013. "Polyphenolic and Basic Chemical Composition of Black Chokeberry Industrial By-Products." *Industrial Crops and Products* 51: 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.051>.

Stoll, Liana, Tania Maria Haas Costa, André Jablonski, Simone Hickmann Flôres,

- and Alessandro de Oliveira Rios. 2016. "Microencapsulation of Anthocyanins with Different Wall Materials and Its Application in Active Biodegradable Films." *Food and Bioprocess Technology* 9 (1): 172–81. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1610-0>.
- Stull, April J., Katherine C. Cash, William D. Johnson, Catherine M. Champagne, and William T. Cefalu. 2010. "Bioactives in Blueberries Improve Insulin Sensitivity in Obese, Insulin-Resistant Men and Women." *Journal of Nutrition* 140 (10): 1764–68. <https://doi.org/10.3945/jn.110.125336>.
- Sun, Xiao hong, Tong tong Zhou, Cai hong Wei, Wei qing Lan, Yong Zhao, Ying jie Pan, and Vivian C.H. Wu. 2018. "Antibacterial Effect and Mechanism of Anthocyanin Rich Chinese Wild Blueberry Extract on Various Foodborne Pathogens." *Food Control* 94 (July): 155–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.012>.
- Sun, Xiuxiu, Randall G. Cameron, and Jinhe Bai. 2020. "Effect of Spray-Drying Temperature on Physicochemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Pectin/Sodium Alginate Microencapsulated Carvacrol." *Food Hydrocolloids* 100 (July 2019): 105420. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105420>.
- T. Santos, Diego, Rodrigo N. Cavalcanti, Maurício A. Rostagno, Carmen L. Queiroga, Marcos N. Eberlin, and M. Angela A. Meireles. 2013. "Extraction of Polyphenols and Anthocyanins from the Jambul (*Syzygium Cumini*) Fruit

Peels.” *Food and Public Health* 3 (1): 12–20.
<https://doi.org/10.5923/j.fph.20130301.02>.

Tarone, Adriana Gadioli, Cinthia Baú Betim Cazarin, and Mario Roberto Marostica Junior. 2020. “Anthocyanins: New Techniques and Challenges in Microencapsulation.” *Food Research International* 133 (December 2019).
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109092>.

Tonon, Renata V., Catherine Brabet, and Míriam D. Hubinger. 2010. “Anthocyanin Stability and Antioxidant Activity of Spray-Dried Açai (*Euterpe Oleracea* Mart.) Juice Produced with Different Carrier Agents.” *Food Research International* 43 (3): 907–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.12.013>.

Torri, L., M. Piochi, R. Marchiani, G. Zeppa, C. Dinnella, and E. Monteleone. 2016. “A Sensory- and Consumer-Based Approach to Optimize Cheese Enrichment with Grape Skin Powders.” *Journal of Dairy Science* 99 (1): 194–204. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9922>.

Tsali, Alexandra, and Athanasia M. Goula. 2018. “Valorization of Grape Pomace: Encapsulation and Storage Stability of Its Phenolic Extract.” *Powder Technology* 340: 194–207. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.011>.

Tumbas Šaponjac, Vesna, Gordana Četković, Jasna Čanadanović-Brunet, Sonja Dilas, Biljana Pajin, Jovana Petrović, Sladana Stajčić, and Jelena Vulić. 2017. “Encapsulation of Sour Cherry Pomace Extract by Freeze Drying: Characterization and Storage Stability.” *Acta Chimica Slovenica* 64 (2): 283–

89. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2789>.

Tumbas Šaponjac, Vesna, Gordana Četković, Jasna Čanadanović-Brunet, Biljana Pajin, Sonja Djilas, Jovana Petrović, Ivana Lončarević, Sladana Stajčić, and Jelena Vulić. 2016. "Sour Cherry Pomace Extract Encapsulated in Whey and Soy Proteins: Incorporation in Cookies." *Food Chemistry* 207: 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.082>.

Tumbas Šaponjac, Vesna, Amadeo Gironés-Vilaplana, Sonja Djilas, Pedro Mena, Gordana Četković, Diego A. Moreno, Jasna Čanadanović-Brunet, Jelena Vulić, Sladana Stajčić, and Milica Vinčić. 2015. "Chemical Composition and Potential Bioactivity of Strawberry Pomace." *RSC Advances*. <https://doi.org/10.1039/c4ra14296a>.

Valle, J. M. Del, and J. M. Aguilera. 1999. "Review: High Pressure CO₂ Extraction. Fundamentals and Applications in the Food Industry." *Food Science and Technology International* 5 (1): 1–24. <https://doi.org/10.1177/108201329900500101>.

Venskutonis, Petras Rimantas. 2020. *Berries. Valorization of Fruit Processing By-Products*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817106-6.00005-8>.

Vulić, Jelena J., Vesna T. Tumbas, Sladana M. Savatović, Sonja M. Dilas, Gordana S. Četković, and Jasna M. Čanadanović-Brunet. 2011. "Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of the Four Berry Fruits Pomace Extracts." *Acta Periodica Technologica* 42: 271–79.

<https://doi.org/10.2298/APT1142271V>.

Waterhouse, Geoffrey I.N., Dongxiao Sun-Waterhouse, Guowan Su, Haifeng Zhao, and Mouming Zhao. 2017. "Spray-Drying of Antioxidant-Rich Blueberry Waste Extracts; Interplay Between Waste Pretreatments and Spray-Drying Process." *Food and Bioprocess Technology* 10 (6): 1074–92. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1880-9>.

West, Megan E., and Lisa J. Mauer. 2013. "Color and Chemical Stability of a Variety of Anthocyanins and Ascorbic Acid in Solution and Powder Forms." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (17): 4169–79. <https://doi.org/10.1021/jf400608b>.

Zardo, Ivanor, Marcelo Brando, Ligia Ferreira, and Caciano Zapata. 2017. "Evaluation of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds Extraction from Blueberry Processing Waste with Acidified Water," 1–14.