

## Capítulo 4

# Técnicas de extracción y estabilización de ingredientes

**Cristina Vergara H.<sup>1\*</sup>, Carolina Astudillo Castro<sup>2</sup>, Izabela Dutra Alvim<sup>3</sup>  
María Ximena Quintanilla<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias -INIA- La Platina. CP: 8831314.  
Santiago, Chile

<sup>2</sup> Escuela de Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso  
2360100, Chile

<sup>3</sup> Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL) PO Box139, Campinas, SP, CEP  
13070-178, Brasil

<sup>4</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, Bogotá, Colombia

\*cristina.vergara@inia.cl

Los compuestos bioactivos como colorantes y antioxidantes presentes en diversas materias primas pueden, ser utilizados y aplicados como ingredientes con propiedades saludables en la industria de alimentos. Para ello es necesario extraerlos desde su matriz original. Sin embargo, al realizar la extracción éstos compuestos se ven expuestos a condiciones medioambientales que podrían afectar su estabilidad. Los principales factores son: la exposición a la luz, la temperatura, el pH, el oxígeno, entre otros. Una herramienta que permite impartir estabilidad a los compuestos extraídos es la microencapsulación (ver 4.2).

## 4.1 Técnicas de extracción

Existen diversas técnicas de extracción de compuestos bioactivos, tales como extracción sólido-líquido, asistida por ultrasonido, tecnologías de membranas, tecnologías limpias o verdes. La selección del método dependerá de: el uso final que se le dará al extracto y del balance costo/rendimiento, entre otros factores. La extracción sólido-líquido es la técnica más utilizada, consiste en un proceso de maceración y extracción por polaridad de los compuestos de interés con solventes afines. Las principales variables que definen el proceso son: el tipo de solvente, la temperatura, el tiempo de extracción y la relación sólido-líquido. El solvente seleccionado dependerá de la polaridad de la molécula/compuesto a ex-

traer, y para ser utilizado en alimentos se podrá seleccionar como solvente: agua, etanol, hexano o mezclas de ellos. El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación son de gran importancia para una extracción eficiente, purificación y uso de compuestos bioactivos para ingredientes en alimentos (Azmir *et al.*, 2013; Lefebvre *et al.*, 2021).

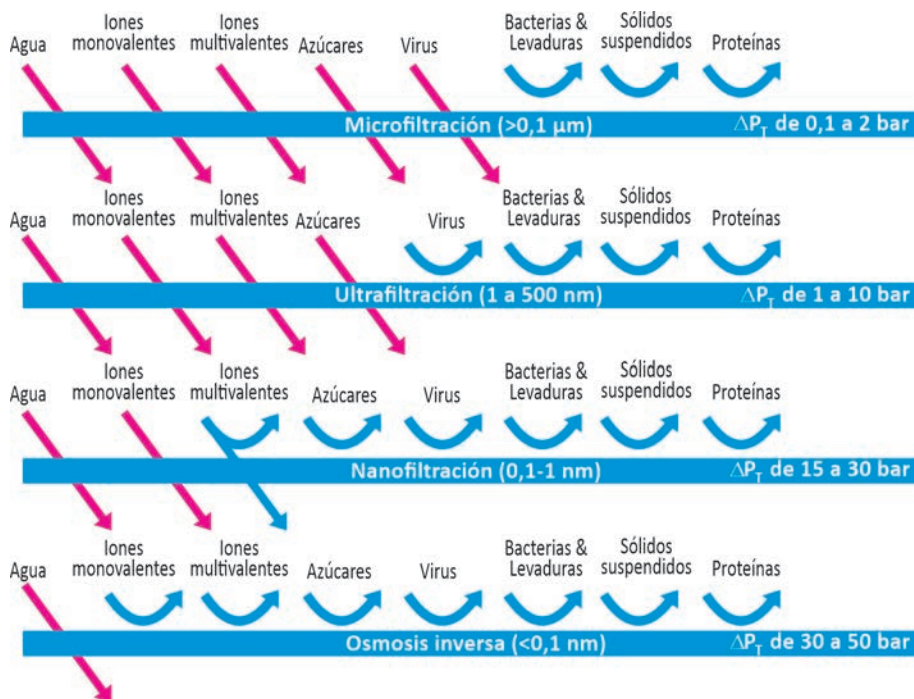
Además, destacan otras técnicas con mayor selectividad y mayor costo conocidas como tecnologías limpias o “verdes”, entre ellas están: extracción asistida por ultrasonido, extracción con fluidos supercríticos o agua subcrítica, entre otros (Azmir *et al.*, 2013; Lefebvre *et al.*, 2021). También, es ampliamente utilizada la tecnología de membranas la cual permite extraer, separar compuestos e incluso concentrar (Vergara *et al.*, 2014; Bhattacharjee *et al.*, 2017).

Todas estas técnicas tienen objetivos comunes dado que buscan:

- Extraer compuestos bioactivos desde la matriz original (vegetales, frutas, flores, entre otros).
- Incrementar la selectividad de los métodos de análisis.
- Concentrar los compuestos extraídos.
- Permitir mejor bioaccesibilidad a los compuestos bioactivos.

## Separación por membranas

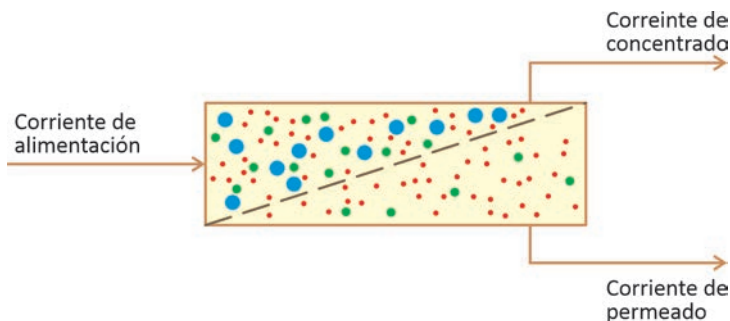
La tecnología de membranas es básicamente una filtración, de tipo tangencial, también conocida como filtración por membranas, donde el filtro es la membrana. Existen varios tipos, pero el foco de este artículo está en aquellos gobernados por la presión transmembrana ( $\Delta PT$ ), que corresponde a la diferencia de presión entre ambas caras de la membrana. Como toda filtración, la separación se realiza en base al tamaño de las partículas y al tamaño del poro de la membrana. Las filtraciones que utilizan la  $\Delta PT$  como fuerza motriz son cuatro: microfiltración (**MF**), ultrafiltración (**UF**), nanofiltración (**NF**) y osmosis inversa (**OI**). Sus diferencias radican en el tamaño de poro de las membranas (para MF y UF) o lo densas que son (para el NF y OI) y la presión transmembrana de operación. Las de poros más grandes son las de MF y son las que utilizan menos presión transmembrana, mientras que las membranas más densas son las de osmosis inversa, que en teoría solo permiten el paso del agua y utilizan la mayor presión transmembrana. En la **Figura 4.1** se muestra un esquema de los componentes que son rechazados y que son capaces de traspasar cada tipo de membrana.



**Figura 4.1.** Esquema de qué tipo de sustancias son capaces de atravesar las membranas de cada tipo de filtración tangencial, junto con los tamaños de poro y rangos de presión típicos de operación (Fuente: adaptado de Cheryan, 1998; Pouliot, 2008).

El potencial de la filtración por membranas es que puede concentrar y fraccionar simultáneamente, es decir sirve para remover solvente y a la vez separar una mezcla en dos o más componentes. Durante una filtración tangencial, la corriente de alimentación fluye paralela a la membrana, mientras ella retendrá componentes y permitirá el paso de otros. Es el flujo de forma paralela el que va “barriendo” aquellas sustancias que fueron retenidas, de forma que no se acumulen en la superficie de la membrana, haciendo el proceso más eficiente comparado con una filtración tradicional. Todas las sustancias retenidas, conforman la corriente de concentrado, mientras que todas las sustancias que traspasaron la membrana constituyen la corriente de permeado, tal como se muestra esquemáticamente en la **Figura 4.2**. Según el proceso que se realice, la corriente de interés será la de permeado, la de concentrado o ambas.

Los parámetros más relevantes en un proceso de membrana son el flux y el coeficiente de rechazo. El flux se define como el flujo de permeado por unidad de área



**Figura 4.2.** Denominación de las corrientes durante una filtración por membranas. En azul se presentan partículas completamente retenidas, en verde, parcialmente retenidas y en rojo, partículas que permean libremente (Fuente: elaboración propia de C. Astudillo).

y el coeficiente de rechazo se relaciona con la proporción entre la concentración de la corriente de permeado y la de alimentación al sistema. Un coeficiente de rechazo de un 100% para un soluto significa que la concentración de ese soluto en la corriente de permeado es cero o bien, muy pequeña con respecto a la de la alimentación, por lo tanto, la membrana es selectiva para ese soluto. Mientras que un coeficiente de rechazo de un 0% significa que la concentración en permeado y alimentación son prácticamente la misma, por ende, la membrana no sería selectiva. Comercialmente las membranas de MF suelen venderse de acuerdo a su tamaño de corte en micrómetros, mientras que las de UF en Da o kDa (Cheryan, 1998). El tamaño de corte se define como la masa molecular de un soluto que será retenido en un 90% por la membrana (Castro-Muñoz *et al.*, 2020), pero como las moléculas tienen diferentes formas y conformaciones - lineales o esféricas-, es difícil saber *a priori* cómo será la separación con una membrana, sin hacer pruebas experimentales. Por otra parte, las membranas de NF y OI se venden con siglas de acuerdo al proveedor y se informa el coeficiente de rechazo de MgSO<sub>4</sub> para NF y NaCl para OI, lo cual algunas veces dificulta la elección cuando se trabaja con compuestos orgánicos. Las membranas disponibles en el mercado son asimétricas, es decir, están constituidas de un soporte y una capa activa, siendo esta última la que realiza la separación, comercializándose en dos tipos de materiales: Inorgánicas y poliméricas. Las primeras tienen mejor resistencia química y térmica, pero como desventaja son menos resistentes mecánicamente, además de presentar elevado costo y disponibilidad en un rango limitado (desde MF hasta NF). Por otra parte, las poliméricas se encuentran disponibles para todo el rango de tamaños de poro (desde MF hasta OI).

El origen de esta tecnología se remonta a los años 60 cuando se consideró como una herramienta de separación para procesos industriales. Sin embargo, cabe señalar que ese entonces hubo una alta resistencia a su incorporación. Actualmente, es considerada una tecnología madura, las membranas son más robustas, los módulos y equipos están mejor diseñados y existe un mayor entendimiento del ensuciamiento de las membranas, que es el principal problema durante su operación (Brans *et al.*, 2004; Bessiere *et al.*, 2005). El ensuciamiento o fouling es la acumulación y deposición de partículas sobre la superficie de la membrana, que tiene como consecuencia la disminución del flux de permeado a través del tiempo y la alteración de la selectividad del proceso (Espinasse *et al.*, 2008). Para revertir esta situación, existen muchas estrategias de operación que pueden ser aplicadas, así también programar ciclos de lavado o regeneración de la membrana (Zhang *et al.*, 2015). Por otra parte, los costos de las membranas han disminuido sensiblemente, ya que existe una alta competencia y un aumento del número de proveedores de membranas y equipos a nivel mundial (Cheryan, 1998).

En la industria de alimentos, tanto MF como UF se han utilizado para la clarificación de jugos, mientras que NF para realizar desmineralización parcial, mientras que OI para reemplazar la capacidad de evaporación de una planta, ya que es capaz de concentrar eliminando el solvente, agua para el caso de los alimentos. Clásicamente la OI ha sido utilizada en desmineralización de agua de mar y en tratamientos de agua por su bajo costo (Sawaki y Chen, 2021). Como proceso, la OI presenta la ventaja respecto de la evaporación porque no hay cambio de fase, lo que significa un importante ahorro en energía, ni tampoco requiere de la utilización de condensadores para recuperar el solvente como en el caso de la evaporación (Cheryan, 1998). Otra característica, es que las filtraciones por membranas se pueden llevar a cabo a bajas temperaturas, como temperatura ambiente (Cheryan, 1998) e incluso de refrigeración, por lo que es útil para recuperar compuestos termolábiles, como proteínas y compuestos fenólicos. Por otra parte, durante MF y UF se generan mínimos cambios en pH y fuerza iónica, aspecto importante a la hora de purificar proteínas y retener su actividad biológica (Cheryan, 1998). La tecnología de membranas utiliza módulos relativamente compactos, membranas con alta densidad de empaque, haciéndola una tecnología muy versátil y que ha sido utilizada intensivamente en la industria.

En la **Tabla 4.1.** se presentan algunas de las aplicaciones de la tecnología de membranas en la Industria de Alimentos.

**Tabla 4.1.** Aplicaciones de la tecnología de membranas en la industria de alimentos.

Proceso	Alimentación	Producto	Objetivo tecnológico	Referencia
MF 1,4 um	Leche descremada	Leche microfiltrada, “pasteurizada en frío”	Retener microorganismos para extender la vida útil	(Pouliot, 2008)
MF 0,1-0,2 um	Leche descremada	Concentrado de micelas de caseína	Retener las micelas de caseína y permear el resto de los componentes produciendo suero nativo, esto se realiza como una etapa previa a la producción de quesos	(Pouliot, 2008)
UF	Suero de leche	Concentrado de proteínas de suero	Concentración de proteínas solubles de la leche para la producción de whey protein concentrate (WPC) y whey protein isolates (WPI)	(Luque y Go, 2008; Pouliot, 2008)
UF	Jugo de frutas	Jugo clarificado.	Eliminación de sólidos suspendidos y extensión de la vida útil.	(Bhattacharjee, Saxena, y Dutta, 2017)
NF	Suero de leche	Suero de leche con menor contenido de sales.	Desmineralización parcial del suero de leche utilizado como insumo para otras aplicaciones	(Brans <i>et al.</i> , 2004; Cuartas-Uribe <i>et al.</i> , 2007)
OI	Jugo de frutas	Jugo concentrado	Concentración de jugos	(Bhattacharjee <i>et al.</i> , 2017)

Por otra parte, la tecnología ha sido utilizada para la separación, recuperación y concentración de compuestos activos utilizando como materia prima productos o subproductos de la agroindustria. Ejemplos de ellos son compuestos fenólicos, antocianinas y carotenoides, en **Tabla 4.2** (Castro-Muñoz *et al.*, 2020).

Además de las separaciones por membranas gobernadas por la diferencia de presión transmembrana, son utilizados otros procesos de membranas como la destilación por membranas, per vaporación y diafiltración como tecnologías complementarias (Castro-Muñoz *et al.*, 2020).

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV) han trabajado filtrando jugos producidos a partir

**Tabla 4.2.** Ejemplos utilizando membranas MF, UF y NF a escala de laboratorio.

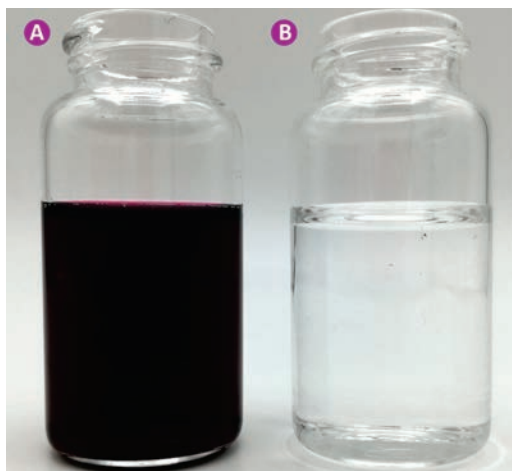
<b>Materia prima</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referencia</b>
Pomaza de uva fermentada y destilada	Recuperación de compuestos fenólicos utilizando membranas de UF y NF	(Díaz-Reinoso <i>et al.</i> , 2009)
Vinasa de uva blanca	Recuperación y concentración de compuestos fenólicos utilizando MF, UF y NF	(Díaz-Reinoso <i>et al.</i> , 2017)
Prensado de cáscaras de naranja	Clarificación del líquido, maximizando la recuperación de la capacidad antioxidante y minimizaron el coeficiente de rechazo para compuestos fenólicos mediante ultrafiltración	(Ruby-Figueroa <i>et al.</i> , 2012)
Residuos líquidos de la industria de alcachofas	Fraccionamiento mediante un sistema integrado de UF y NF	(Conidi <i>et al.</i> , 2014)
Alperujo	Recuperación de compuestos fenólicos por UF	(Cassano <i>et al.</i> , 2011)
	Fraccionamiento de compuestos fenólicos por UF y NF	(Cassano <i>et al.</i> , 2013)
Pomasa de manzana	Recuperación de compuestos fenólicos (ácido quínico, catequinas y epicatequinas) mediante ultrafiltración	(Uyttebroek <i>et al.</i> , 2018)

de clones de papa morada como fuente de antocianinas que poseen un color púrpura muy intenso. El desafío fue que, mediante tecnología de membranas se lograra separar el almidón de la papa, para obtener un jugo libre de almidón (posteriormente concentrar el color), para conseguir una corriente que contenga las antocianinas que esté concentrada. Para ello, se probaron diversas membranas en el rango de MF y UF para realizar la remoción del almidón y una vez conseguida dicha remoción, utilizar NF o bien OI, para remover agua del jugo, y de esta forma, concentrarlo. La **Figura 4.3** muestra la representación esquemática del proceso en dos etapas en serie, necesario para conseguir el desafío planteado, mediante una primera filtración y una segunda etapa de NF.

En la **Figura 4.4** se presenta el permeado de la filtración libre de almidón, que es completamente translúcido, y el permeado obtenido durante la nanofiltración. Se puede notar que el permeado de la filtración libre de almidón es de color púrpura



**Figura 4.3.** Síntesis del proceso para la obtención de un concentrado de color libre de almidón (Fuente: elaboración propia de C. Astudillo).



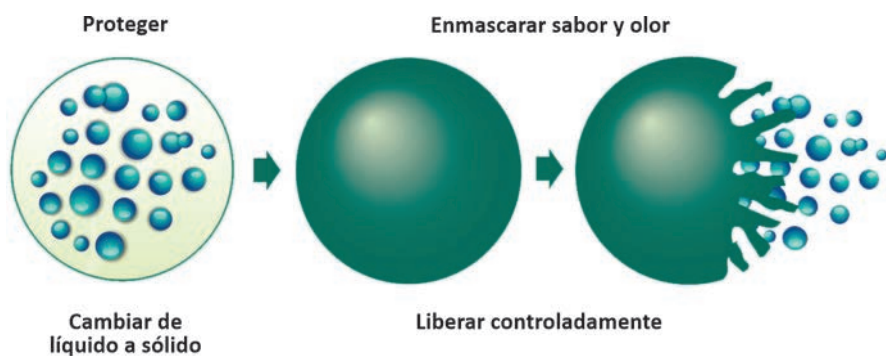
**Figura 4.4** Muestras de permeados obtenidos de jugo de papa de pulpa de color morada: Permeado de jugo de papa libre de almidón que corresponde a la alimentación de la NF (A) y Permeado de NF que es totalmente incoloro (B) (Fuente: Laboratorio Membranas PUCV).

y libre de turbidez, lo cual es consecuencia de la ausencia del almidón, mientras que el permeado de NF fue completamente incoloro, lo que se relaciona con que durante la etapa de NF, las antocianinas, que son las moléculas coloreadas son completamente retenidas por la membrana, lo cual es deseable en un proceso de esta naturaleza, y además, convenientemente, se puede observar a simple vista. Estos resultados, permitieron separar el almidón del color, y explorar las condiciones para que el proceso sea sostenible en el tiempo. Estos resultados son prometedores, ya que han permitido a escala de laboratorio, producir un jugo de papa morada altamente concentrado y libre de almidón.



## 4.2 Microencapsulación

Una herramienta para estabilizar extractos de materias primas vegetales y sus compuestos bioactivos es la microencapsulación (**Figura 4.5**). Tal proceso se define como una técnica mediante la cual compuestos activos, sólidos o líquidos se encapsulan en una matriz o sistema pared de naturaleza polimérica con el fin de proteger los activos del medioambiente, de su interacción con otros componentes del alimento o bien para controlar su liberación (Yañez *et al.*, 2002). Para seleccionar el método de encapsulación a utilizar y el agente encapsulante más apropiado es importante definir: cuál será la aplicación de las micropartículas, la composición de los ingredientes, el mecanismo de liberación, tamaño de partícula, forma física final y el costo, entre otros (Gibbs *et al.*, 1999; Gouin, 2004; Desai y Park, 2005).



**Figura 4.5.** Esquema de microencapsulación de ingredientes y sus efectos de estabilización (Fuente: Laboratorio UMPA-INIA).

Dependiendo de la técnica de encapsulación utilizada se obtendrán microcápsulas o micropartículas, ambas conocidas como microencapsulados. Ahora bien, las microcápsulas son aquellas donde el compuesto activo (o activo) de interés está localizado en el centro y cubierto por una capa de protección, mientras que las micropartículas corresponden a partículas que tienen embebidos en la matriz polimérica el activo distribuido en toda la matriz. Los encapsulados entregan protección al activo de interés ya sea sobre condiciones adversas en el almacenamiento (luz, temperatura, humedad, exposición al oxígeno), en el alimento (pH o interacción con otros componentes del alimento proteínas, grasas, carbohidratos) y una vez ingeridos en el tránsito gastrointestinal (pH y enzimas). Algunos de los métodos utilizados para microencapsulación son: secado por atomización (**Figura 4.6**), secado

por enfriamiento, liofilización, extrusión, recubrimiento por lecho fluidizado, atrapamiento por liposomas, gelificación iónica (**Figura 4.7**), coacervación, entre otros.



**Figura 4.6.** Micro encapsulados obtenidos en el laboratorio alimentos INIA mediante secado por atomización desde extracto líquido concentrado de zanahoria morada. La intensidad del color está dada por la concentración del extracto (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).



**Figura 4.7.** Encapsulados obtenidos en el laboratorio de alimentos mediante gelificación iónica desde extractos vegetales, donde: verde es alfalfa; amarillo, pétalos dedal de oro; naranja, camote naranja; rojo, papa PPC roja; púrpura, zanahoria morada; morado, papa PPC morada; negro, tres diluciones de extractos de calafate (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).

Diferentes tipos de agentes encapsulantes se utilizan algunos ejemplos son: **polisacáridos** (maltodextrina (MD) con diferentes equivalentes de dextrosa, inulina (IN), gelatina, fibra soluble ( $\beta$ -D-Glucano), pectina, mucilago de nopal, almidón, y

almidones modificados (Capsul); **gomas** (goma arábiga, guar y xantana); **proteínas** (aislado proteico de soja (APS)), los cuales se utilizan en forma independiente y en mezclas (Sáenz *et al.*, 2009; Vergara *et al.*, 2014, 2020; Robert *et al.*, 2015 y 2017). A la hora de seleccionar el agente encapsulante es importante considerar características como la solubilidad en agua, permeabilidad, facilidad de aplicación, baja viscosidad en soluciones concentradas y naturaleza hidrofóbica o hidrofílica de los mismos. Todos estos factores influirán en las características del producto final (Gibbs *et al.*, 1999).

Los microencapsulados tienen múltiples aplicaciones y son muy versátiles. En general, son utilizados en la industria de alimentos en área como lácteos, confitería, bebidas y bakery, también en nutraceutica y cosmética. En la actualidad se encapsulan activos como antioxidantes, saborizantes, colorantes (antocianinas, betalaínas, carotenos), péptidos, vitaminas, minerales, lípidos (omega-3), enzimas y probióticos entre otros. La ingesta de compuestos bioactivos y el uso de ingredientes naturales ha impulsado el uso de encapsulados, debido a que se necesita asegurar la estabilidad y liberación de los activos o metabolitos de interés para asegurar las propiedades saludables.

En el laboratorio de alimentos de INIA La Platina (UMPA), se han ejecutado varios proyectos aplicando la tecnología de microencapsulación, con el objetivo de estabilizar activos como colorantes naturales de materias primas como papas de pulpa de color (PPC) (Vergara *et al.*, 2020) y zanahoria morada (**Figura 4.8**), específicamente antocianinas y ácidos fenólicos, estabilización de clorofilas extraídas de alfalfa y aceites esenciales, entre otros. Estos ingredientes naturales encapsulados se han evaluado tanto en estabilidad acelerada en almacena-



**Figura 4.8.** Proceso de microencapsulación mediante secado por atomización de jugo concentrado de antocianinas de zanahoria morada, etapas de proceso y evaluación de estabilidad en almacenamiento y digestión simulada *in-vitro* (Fuente: Laboratorio UMPA-INIA).

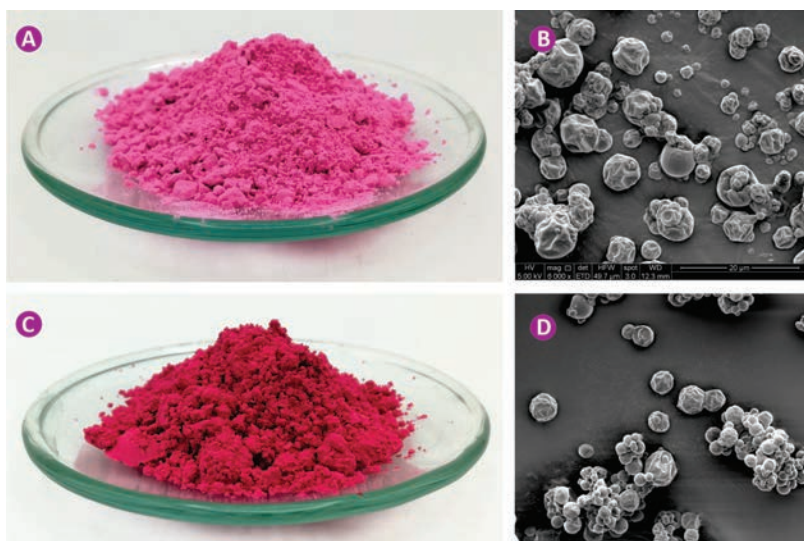
miento, como en aplicaciones en diversas matrices como yogurt, preparaciones instantáneas (jugos y sopas), entre otras, y además, en digestión simulada *in-vitro* para establecer la bioaccesibilidad de los activos que ejercen beneficios en la salud de las personas.

Los encapsulados de extractos de antocianinas de papa y zanahoria morada se han obtenido mediante secado por atomización con humedad cercana al 5% y actividad de agua aproximada 0,2 lo cual asegura estabilidad microbiológica en almacenamiento. Se alcanzó eficiencias de encapsulación (EE) sobre 70%, la EE es uno de los principales parámetros evaluados y se busca maximizar el parámetro con el objetivo de impartir protección a las antocianinas (ó el activo de interés). En la encapsulación de antocianinas de papa y zanahoria morada se observó una alta interacción entre las antocianinas y el agente encapsulante causada por puentes de hidrógeno y/o interacciones electrostáticas (Fredes *et al.*, 2018; Vergara *et al.*, 2020).

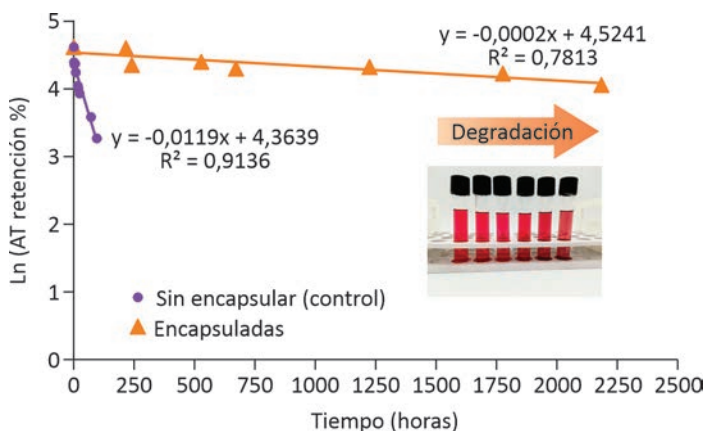
Las micropartículas obtenidas mediante secado por atomización mostraron una distribución de tamaño de partículas unimodal y tamaño de partícula (D<sub>4,3</sub>) entre 6 y 10  $\mu\text{m}$ . La morfología externa de las partículas (**Figura 4.9**), determinada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) fue esférica, con tendencia a la aglomeración, con abolladuras, morfología esperada para partículas obtenidas mediante secado por atomización (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Adicionalmente, se evaluó la estabilidad acelerada en almacenamiento (60°C y 20% HR) observándose mayor estabilidad de los sistemas microencapsulados respecto a los sistemas sin encapsular. En el caso de antocianinas de papa morada la retención de antocianinas alcanzó el 50% a los 140 días de almacenamiento versus el control sin encapsular que se degradó rápidamente en 48 horas, siguiendo una cinética de degradación de pseudo-primer orden (Vergara *et al.*, 2020). Por otra parte, una tendencia similar se observó al evaluar la degradación de antocianinas de zanahoria morada, con cinética de pseudo-primer orden. Esta fue significativamente menor la constante de velocidad de degradación para antocianinas encapsuladas versus el control (**Figura 4.10**).

Otro aspecto fundamental, fue la estabilidad de las antocianinas en digestión simulada *in-vitro*, lo cual entrega información sobre su comportamiento en el tracto gastrointestinal, se evaluó bioaccesibilidad. La cual se define como: la cantidad de compuesto que es liberado desde la matriz post-digestión (Lila *et al.*, 2011). Para antocianinas de papa morada la bioaccesibilidad al final de



**Figura 4.9.** Microencapsulados y morfología de sus partículas mediante microscopía diferencial de barrido, para: extracto de papa de pulpa de (PPC) color morada (A), partículas mediante microscopía para maltodextrina + PPC (B), extracto de zanahoria morada (C) y partículas mediante microscopía para maltodextrina+zanahoria morada (D) (Fuente: Laboratorio UMPA - INIA).



**Figura 4.10.** Cinética de degradación de antocianinas de zanahoria morada encapsuladas y sin encapsular (Fuente: Laboratorio UMPA-INIA).

la digestión fue mayor al 20% en antocianinas encapsuladas respecto a las no-encapsuladas. Similar comportamiento se ha observado en antocianinas de zanahoria morada cuantificando el contenido total de antocianinas.

La microencapsulación ha mostrado ser una estrategia para generar protección a las antocianinas de extractos de papas PPC y también de zanahoria morada, tanto en condiciones de almacenamiento como en digestión simulada. Lo cual presenta ventajas para ingredientes destinados a impartir color y también características antioxidantes tanto en el alimento como en el organismo.

### 4.3. Tecnologías combinadas de microencapsulación para estabilización de ingredientes

Con el objetivo de estabilizar compuestos bioactivos, en la mayoría de los casos se utiliza un único proceso de microencapsulación. Sin embargo, dependiendo de las características del compuesto estabilizado o del producto/alimento al cuál se incorpora el compuesto, es necesario utilizar más de un tipo de recubrimiento para lograr los objetivos de protección y liberación esperados. Esto es lo que se denomina métodos combinados en microencapsulación (Fadini *et al.*, 2018).

La **Tabla 4.3** presenta algunas características de los procesos de encapsulación que se estudian en el Centro Tecnológico de Cereales y Chocolate del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL- Brasil).

**Tabla 4.3.** Características de algunos procesos de encapsulación y sus partículas  
(Fuente: elaboración propia de I. Dutra Alvim).

Proceso	Medio de preparación	Principio de estabilización	Característica de la micropartícula	Posibles limitaciones
Spray drying	Soluciones o dispersiones acuosas	Deshidratación	Partícula seca	Alta solubilidad de las micropartículas
Spray chilling	Soluciones o dispersiones en grasa caliente fundida	Enfriamiento	Partícula lipídica sólida	Pared hidrofóbica-separación de fase en algunos productos
Gelificación iónica	Soluciones o dispersiones acuosas	Interacción iónica de cargas opuestas polímero - ión	Partícula de gel con alta humedad	Baja retención de activos hidrofílicos-alta porosidad de la matriz
Coacervación compleja	Soluciones o dispersiones acuosas	Interacción iónica de cargas opuestas polímero - polímero		

Cuando el activo posee una alta solubilidad en agua, una estrategia de combinación de tecnología es realizar una emulsión doble con el fin de proteger y crear una capa de protección para que el activo no se libere en agua, y posteriormente encapsular mediante gelificación iónica. Para comprender el comportamiento de este tipo de activos se presenta la encapsulación de colorante hibiscus con tecnologías combinadas (de Moura *et al.*, 2018, 2019). Por otro lado, cuando las partículas son obtenidas mediante secado por atomización se utiliza como agentes encapsulantes (permitidos para alimentos) ingredientes muy solubles en agua (maltodextrinas, almidones modificados, goma de acacia, etc.) que hacen que sus micropartículas tengan alta solubilidad limitando también la aplicación en alimentos con alto contenido de humedad. Una de las formas de reducir la solubilidad de estas micropartículas es realizar un recubrimiento lipídico en su superficie utilizando métodos como spray chilling o lecho fluidizado (Fadini *et al.*, 2018, 2019). Para comprender esta aplicación se presenta la encapsulación de extracto de té verde.

## Colorante natural hidrofílico aplicado en yogurt

Se encapsuló extracto acuoso de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) con intenso color rojo, el cual es sensible a condiciones de pH por sobre 5 y a la exposición a la luz. Cuando el extracto es inestable su color se altera y puede incluso cambiar a gris. Se aplicó como método de encapsulación gelificación iónica para la estabilización de extracto de hibisco y posteriormente se aplicó como colorante natural en yogurt.

Además, se evaluó la producción de partículas de diferentes tamaños utilizando gelificación iónica por atomización (partículas pequeñas) o goteo (dripping - partículas grandes). Se aplicó tecnologías combinadas realizando una primera encapsulación del extracto de hibisco mediante una emulsión doble, para posteriormente realizar una segunda encapsulación por gelificación iónica. Una comparación de las dos estrategias para la encapsulación del extracto de hibisco es presentada en la **Figura 4.11**.

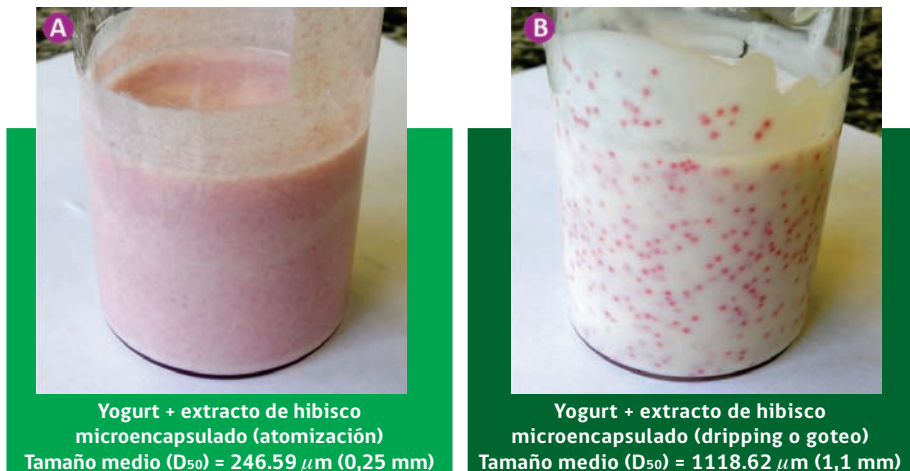
Se alcanzó altas eficiencias de encapsulación por sobre 80% para polifenoles y antocianinas. Los mejores valores EE fueron observados para el proceso de atomización (partículas más pequeñas) que para dripping (partículas más grandes).

La aplicación de las partículas en yogurt mantuvo su color por 29 días, con retención de 48 a 21% del contenido de antocianinas. Mientras que el extracto



**Figura 4.11.** Comparación entre métodos único Y combinado para encapsulación del extracto de hibisco (Fuente: adaptado de, “de Moura” et al., 2018, 2019).

sin encapsular sólo alcanzó una retención de antocianina de 14%, considerado un buen resultado para uso de colorante natural en este tipo de producto. El yogurt con aplicación de partículas generadas por atomización (de menor tamaño) alcanzó una mayor aceptabilidad en apariencia (**Figura 4.12**), con una nota de 6,5 en el análisis sensorial, correspondiente a los valores de “me gusta moderadamente” a “me gustó un poco” (de Moura et al., 2018, 2019).



**Figura 4.12.** Apariencia del Yogurt con aplicación de encapsulados de hibiscu micro encapsulado (Fuente: imágenes cedidas por la Dra. S.C.S.R. de Moura a I. Dutra Alvim).



# Extracto concentrado de té verde y su aplicación en helados

Se encapsuló extracto concentrado de té verde para enmascarar el sabor amargo, mejorar solubilidad del extracto en agua e inhibir las posibles interacciones de los polifenoles y las proteínas de la leche usada en helados.

Se utilizó gelificación iónica y secado por atomización como métodos de encapsulación. Como primera estrategia combinada se encapsuló extracto de té verde por emulsión doble y después mediante gelificación iónica (Figura 4.13). Y como segunda estrategia combinada se encapsuló el extracto mediante secado por atomización y posteriormente se aplicó recubrimiento lipídico mediante spray-chilling (Figura 4.14).



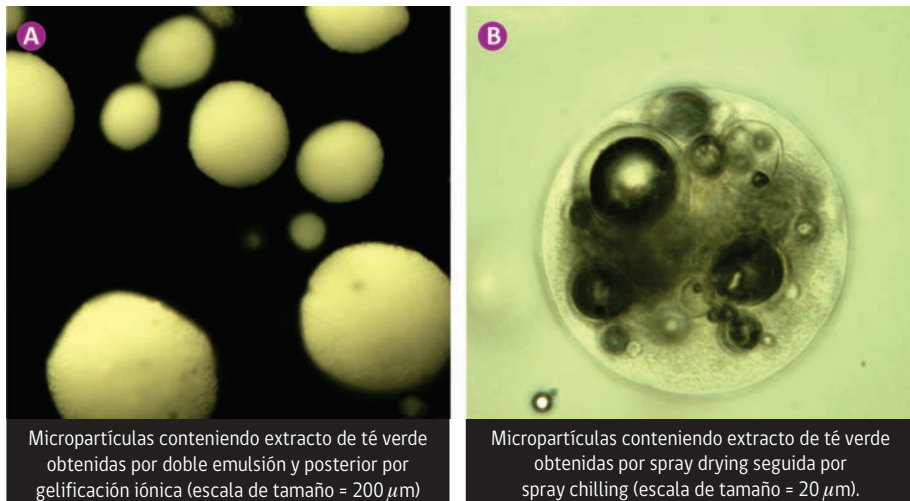
**Figura 4.13.** Comparación entre métodos único e combinado para encapsulación del extracto de té (Fuente: adaptada por I. Dutra Alvim de Cutrim *et al.*, 2019).

Las eficiencias de encapsulación de polifenoles del extracto de té verde fueron superiores al 70% para ambas estrategias de encapsulación combinada. La emulsión doble fue una estrategia adecuada para retener los compuestos hidrófilos del extracto de té verde en la matriz alta en humedad de las micropartículas de gelificación iónica.



**Figura 4.14.** Comparación entre métodos único e combinado para encapsulación del extracto de té verde: SPRAY DRYING. (Fuente: adaptada por I. Dutra Alvim de Cutrim et al., 2019).

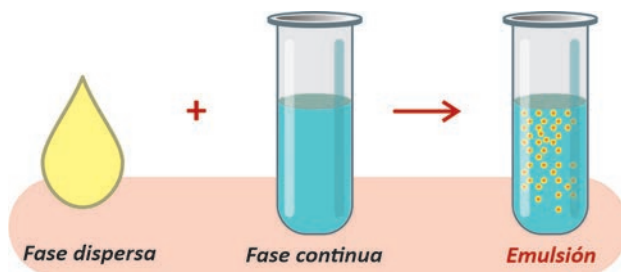
La aplicación de ambos tipos de micropartículas aumentó el contenido de polifenoles en al menos un 59,5% y la aceptación sensorial del 75% por parte de los consumidores, sin impactos significativos en las características tecnológicas del producto (**Figura 4.15**).



**Figura 4.15.** Morfología externa de partículas obtenidas para extracto de té verde encapsulado por doble emulsión y gelificación iónica (A) y extracto de té verde obtenidas por spray drying seguida por spray chilling (B) (Fuente: imágenes cedidas por Dra. C.S. Cutrim).

## 4.4 Emulsiones

Una emulsión está compuesta por dos líquidos inmiscibles –el ejemplo más común es el agua y el aceite–. Uno de los líquidos, catalogado como fase dispersa o interna se dispersa en forma de gotitas esféricas en el otro, fase continua o externa (**Figura 4.16**).



**Figura 4.16.** Formación de una emulsión (Fuente: elaboración propia de M.X. Quintanilla).

La clasificación de las emulsiones se da según la naturaleza y el tamaño de la micela en la fase dispersa (Piacentini, 2016):

- Emulsiones de aceite en agua (O / W), consisten en gotitas de aceite dispersas en una fase acuosa.
- Emulsiones de agua en aceite (W / O) constituido por gotitas acuosas dispersas en una fase oleosa.
- Emulsiones múltiples
- Emulsiones de agua en aceite en agua (W / O / W), en las que las gotas de agua se dispersan dentro de las gotas de aceite más grandes que a su vez se dispersan en una solución acuosa.
- Emulsiones de fase y aceite en agua en aceite (O / W / O) que consisten en gotitas de aceite dispersas en gotitas de agua más grandes que a su vez están dispersas en una fase oleosa.

En cuanto a la clasificación según el tamaño de las micelas en la fase dispersa se encuentran (Selcan, 2018):

- Emulsiones múltiples: rango de tamaño de 0,1 a 5  $\mu\text{m}$
- Emulsiones micelares o microemulsiones: rango de tamaño de 5 a 50 nm
- Nanoemulsiones: rango de tamaño de 10 a 100 nm

Una de las características más importantes de las emulsiones es la estabilidad (**Figura 4.17**), cuando una emulsión pierde estabilidad, sufre cambios en la viscosidad, así como también hay pérdida de uniformidad a través de mecanismos de inestabilidad (cremado, sedimentación, floculación, coalescencia, engrosamiento) (Iwata, 2013).



**Figura 4.17.** Mecanismos de inestabilidad de las emulsiones (Fuente: elaboración propia de M.X. Quintanilla).

La estabilidad de la emulsión está determinada por el tamaño de la gota, ya que la velocidad de separación gravitacional se reduce a menor tamaño de la gota, por su parte el aumento de la concentración de la gota influye impidiendo movimiento de las gotas circundantes. Una de las estrategias para evitar la inestabilidad de las emulsiones es el uso de los emulsionantes o también llamados tensioactivos. Estos compuestos unen las fases y las mantienen en estado emulsionado gracias a su capacidad para disminuir la tensión interfacial entre las fases, su estructura está compuesta por dos grupos: uno polar -hidrófilo- y otro no polar -hidrófobo- (Zhao, 2016).

Actualmente, las emulsiones son ampliamente utilizadas en la industria alimentaria y farmacéutica, los sistemas de administración basado en emulsiones ofrecen grandes beneficios, ya que permiten incorporar nutrientes, antioxidantes, saborizantes, aromatizantes, aceites esenciales, pigmentos al producto final. Una ventaja significativa es la posibilidad de obtener micelas de tamaño micro y nano con compuestos activos encapsulados (Sundarraj, 2019).

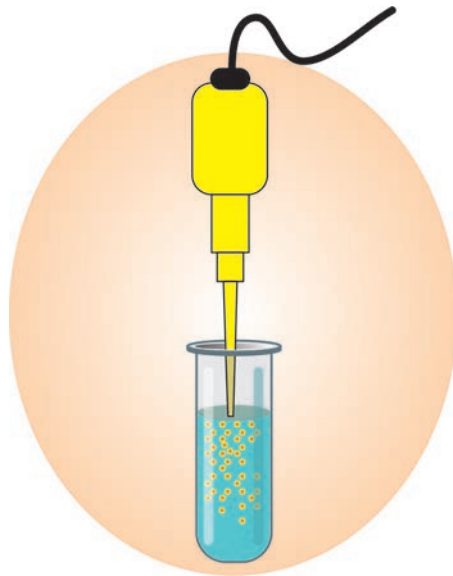
Como se mencionó anteriormente las **nanoemulsiones** son emulsiones con gotas cuyo tamaño entra en la escala nanométrica, éstas pueden ser obtenidas mediante varias técnicas -de alta y baja energía- como la homogeneización a alta presión, la microfluidización y el tratamiento ultrasónico, la formación de

la nanoemulsión se logra gracias a la rotura de las gotitas, esto es posible generando grandes diferencias de presión dentro de los dispositivos mecánicos u ondas de ultrasonido (Ricaurte *et al.*, 2018).

En contraste con las emulsiones convencionales, las nanoemulsiones presentan varias ventajas debido al pequeño tamaño de las gotas que contienen (Pradhan *et al.*, 2015; Zeeb *et al.*, 2015):

- Alta claridad óptica
- Estabilidad física: frente a la separación gravitacional y la agregación de gotas
- Mayor biodisponibilidad de las sustancias encapsuladas
- Liberación prolongada y específica del sitio

Estas características han despertado gran interés científico, así como industrial ya que se convierten en sistemas ideales para aplicaciones de tipo alimentario, cosmético y farmacéutico (De Oca-Ávalos *et al.*, 2017).



**Figura 4.18.** Formación de una nano emulsión (Fuente: elaboración propia de M.X. Quintanilla).

# Conclusión

La extracción y estabilización de compuestos bioactivos es la estrategia más efectiva para poder formular ingredientes con características saludables y funcionales. De esta forma es factible aprovechar los beneficios y propiedades saludables de materias primas reconocidas por su composición y contenido de antioxidantes. Una correcta extracción y posterior estabilización mediante microencapsulación resulta en ingredientes estables en almacenamiento y tracto gastrointestinal, disponiendo de ingredientes manejables y fáciles de ser incorporados en matrices alimentarias.

# Literatura citada

- Alvim, I. D., Prata, A. S., & Grosso, C. R. (2016). Methods of encapsulation. In *Edible Films and Coatings* (pp. 317-334). CRC Press.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering* 117(4), 426-436.
- Bessiere, Y., Abidine, N., & Bacchin, P. (2005). Low fouling conditions in dead-end filtration: Evidence for a critical filtered volume and interpretation using critical osmotic pressure. *Journal of Membrane Science* 264(1-2), 37-47.
- Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., & Dutta, S. (2017). Fruit juice processing using membrane technology: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 43 136-153.
- Brans, G., Schroën, C. G. P. H., van der Sman, R. G. M., & Boom, R. M. (2004). Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *Journal of Membrane Science* 243(1-2), 263-272.
- Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2011). Comparison of the performance of UF membranes in olive mill wastewaters treatment. *Water Research* 45(10), 3197-3204.
- Cassano, Alfredo, Conidi, C., Giorno, L., & Drioli, E. (2013). Fractionation of olive mill wastewaters by membrane separation techniques. *Journal of Hazardous Materials* 248-249(1), 185-193.

- Castro-Muñoz, R., Boczkaj, G., Gontarek, E., Cassano, A., & Fíla, V. (2020). Membrane technologies assisting plant-based and agro-food by-products processing: A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology* 95, 219–232.
- Cheryan, M. (1998). Ultrafiltration and microfiltration handbook. CRC press. In Vasa. <https://doi.org/97-62251>.
- Conidi, C., Cassano, a., & Garcia-Castello, E. (2014). Valorization of artichoke wastewaters by integrated membrane process. *Water Research* 48(1), 363–374.
- Cuartas-Uribe, B., Alcaina-Miranda, M. I., Soriano-Costa, E., & Bes-Piá, A. (2007). Comparison of the behavior of two nanofiltration membranes for sweet whey demineralization. *Journal of Dairy Science* 90(3), 1094–1101.
- Cutrim, C. S., Alvim, I. D., & Cortez, M. A. S. (2019). Microencapsulation of green tea polyphenols by ionic gelation and spray chilling methods. *Journal of food science and technology* 56(8), 3561–3570.
- de Moura, S. C., Berling, C. L., Germer, S. P., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2018). Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. *Food Chemistry* 241, 317–327.
- de Moura, S. C., Schettini, G. N., Garcia, A. O., Gallina, D. A., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2019). Stability of hibiscus extract encapsulated by ionic gelation incorporated in yogurt. *Food and Bioprocess Technology* 12(9), 1500–1515.
- De Oca-Ávalos, J. M. M., Candal, R. J., & Herrera, M. L. (2017). Nanoemulsions: stability and physical properties. *Current Opinion in Food Science* 16, 1–6.
- Desai, H & Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology* 23, 1361–1394.
- Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2009). Ultra- and nanofiltration of aqueous extracts from distilled fermented grape pomace. *Journal of Food Engineering* 91(4), 587–593.
- Díaz-Reinoso, B., Moure, A., González, J., & Domínguez, H. (2017). A membrane process for the recovery of a concentrated phenolic product from white vinasses. *Chemical Engineering Journal* 327, 210–217.

- Espinasse, B., Bacchin, P., & Aimar, P. (2008). Filtration method characterizing the reversibility of colloidal fouling layers at a membrane surface: analysis through critical flux and osmotic pressure. *Journal of Colloid and Interface Science* 320, 483-490.
- Fadini, A. L., Alvim, I. D., Ribeiro, I. P., Ruzene, L. G., da Silva, L. B., Queiroz, M. B., ... & Rodrigues, R. A. F. (2018). Innovative strategy based on combined microencapsulation technologies for food application and the influence of wall material composition. *LWT* 91, 345-352.
- Fadini, A. L., Dutra Alvim, I., Paganotti, K. B. D. F., Bataglia da Silva, L., Bonifácio Queiroz, M., Miguel, A. M. R. D. O., & Rodrigues, R. A. F. (2019). Optimization of the production of double-shell microparticles containing fish oil. *Food science and technology international* 25(5), 359-369.
- Fredes, C., Osorio, M. J., Parada, J., & Robert, P. (2018). Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles. *LWT* 91, 549-556.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chanbin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40, 1107-1121.
- Gibbs, B., Kermasha, S., Alli, I. & Mulligan, C. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50, 213-224.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology* 15, 330-347.
- Iwata H., Shimada K. (2013) Emulsiones. En: Fórmulas, Ingredientes y Producción de Cosméticos. Springer, Tokio.
- Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A* 1635, 461770.
- Lila, M. A., Ribnicky, D. M., Rojo, L. E., Rojas-Silva, P., Oren, A., Havenaar, R., ... & Grace, M. H. (2012). Complementary approaches to gauge the bioavailability and distribution of ingested berry polyphenolics. *Journal of agricultural and food chemistry* 60(23), 5763-5771.



- Luque, S., & Go, D. (2008). Industrial Applications of Porous Ceramic Membranes. Pressure-Driven Processes. 13(07).
- Piacentini E. (2016) Emulsion. In: Drioli E., Giorno L. (eds) Encyclopedia of Membranes. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Pouliot, Y. (2008). Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal* 18(7), 735–740.
- Pradhan, N., Singh, S., Ojha, N., Shrivastava, A., Barla, A., Rai, V., & Bose, S. (2015). Facets of nanotechnology as seen in food processing, packaging, and preservation industry. *BioMed research international* 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/365672>.
- Ricaurte, L., Hernández-Carrión, M., Moyano-Molano, M., Clavijo-Romero, A., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2018). Physical, thermal and thermodynamical study of high oleic palm oil nanoemulsions. *Food chemistry* 256, 62–70.
- Robert, P., García, G & Fredes, C. 2017. Drying and Preservation of polyphenols. Chapter 9. In *Advances in Technologies for Producing Food-Relevant Polyphenols*. José Cuevas, José Rodrigo Vergara and José Ricardo Pérez-Correa (Ed). CRC Press/Taylor & Francis Group. (ISBN: 978-1-4987-1497, Hardback).
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., & Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT-Food Science and Technology* 60(2), 1039-1045.
- Ruby-Figueroa, R., Cassano, A., & Drioli, E. (2012). Ultrafiltration of orange press liquor: Optimization of operating conditions for the recovery of antioxidant compounds by response surface methodology. *Separation and Purification Technology* 98, 255–261.
- Sáenz, C., Tapia S., Chavez, J. & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry* 114, 616–622.
- Sawaki, N., & Chen, C. L. (2021). Cost evaluation for a two-staged reverse osmosis and pressure retarded osmosis desalination process. *Desalination* 497, 114767.

- Selcan Karakuş (2018). Introductory Chapter: The Perspective of Emulsion Systems, Science and Technology Behind Nanoemulsions, Selcan Karakuş, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.75727.
- Sundarraj AA, Ranganathan TV (2019) Clasificación y usos de emulsiones en aplicaciones alimentarias y agrícolas. En: Gutiérrez T. (eds) Polímeros para aplicaciones agroalimentarias. Springer, Cham. [https://doi-org.ez.unisabana.edu.co/10.1007/978-3-030-19416-1\\_9](https://doi-org.ez.unisabana.edu.co/10.1007/978-3-030-19416-1_9).
- Uyttebroek, M., Vandezande, P., Van Dael, M., Vloemans, S., Noten, B., Bongers, B., ... Lemmens, B. (2018). Concentration of phenolic compounds from apple pomace extracts by nanofiltration at lab and pilot scale with a techno-economic assessment. *Journal of Food Process Engineering* 41(1), 1-10.
- Vergara, C., Saavedra, J., Sáenz, C., García, P. & Robert, P. (2014). Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. *Food chemistry* 157, 246-251.
- Vergara, C., Pino, M. T., Zamora, O., Parada, J., Pérez, R., Uribe, M. & Kalazich, J. (2020). Microencapsulation of anthocyanin extracted from purple flesh cultivated potatoes by spray drying and its effects on in vitro gastrointestinal digestion. *Molecules* 25(3), 722.
- Yañez-Fernández, J., Salazar-Montoya, J.A., Chaires-Martínez, L., Jiménez-Hernández, J., Márquez-Robles, M. & Ramos-Ramírez, E.G. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva* 21, 313-319.
- Zeeb, B., Herz, E., McClements, D. J., & Weiss, J. (2015). Reprint of: Impact of alcohols on the formation and stability of protein-stabilized nanoemulsions. *Journal of colloid and interface science* 449, 13-20.
- Zhang, W., Luo, J., Ding, L., & Jaffrin, M. Y. (2015). A review on flux decline control strategies in pressure-driven membrane processes. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 54 (11), 2843-2861.
- Zhao, X. H., & Tang, C. H. (2016). Spray-drying microencapsulation of CoQ10 in olive oil for enhanced water dispersion, stability and bioaccessibility: Influence of type of emulsifiers and/or wall materials. *Food hydrocolloids* 61, 20-30.