



## Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Maestría en Biociencias Aplicadas con mención en Biodescubrimiento

**Diseño de un formulado microencapsulado con potencial propiedad nutracéutica, a partir de un extracto optimizado de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* con distintos materiales de pared**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Biociencias Aplicadas con mención en Biodescubrimiento

**Autor:**

Oscar Paul Rodríguez Conterón

**Directora:**

Patricia Isabel Manzano Santana

ORCID:  0000-0003-3189-6455

Cuenca, Ecuador

2023-05-12

## Resumen

Los ácidos clorogénicos poseen propiedades favorables para la salud humana y pueden ser encontrados en altas cantidades en el extracto vegetal de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao*; sin embargo, por su vulnerabilidad a condiciones ambientales variables, se requiere un mecanismo de protección que permita la entrega efectiva de su funcionalidad. El objetivo de este trabajo fue diseñar un formulado microencapsulado mediante secado por aspersión de un extracto de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* con distintos materiales pared, evaluar su eficiencia y la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos específicos durante la digestión gastrointestinal (DGI). El extracto vegetal concentrado al 20 % y 40 % de carga fue microencapsulado con maltodextrina (MD), mezclas de maltodextrina con goma arábiga (MD-GA) y maltodextrina con pectina (MD-P). Los resultados señalaron que el formulado que presentó las características más destacadas fue MD-GA 1.5:1(p/p) cargadas al 20%, que se presentaron como micropartículas con fluidez moderada y cohesividad intermedia y alcanzaron  $61.8 \pm 4.5$  % de rendimiento,  $91.1 \pm 8.3$  % de eficiencia, con CPT de  $13.5 \pm 5.2$  mg EAG / g, CFT de  $25.8 \pm 0.1$  mgEQ / g y para DPPH  $50.4 \pm 1.4$   $\mu$ molET/g. SEM, DSC y FTIR mostraron microcápsulas con morfología irregular con superficie rugosa y sin fisuras, que fueron térmicamente más estables y formaron complejos de inclusión. Además, durante la DGI simulada la mayor bioaccesibilidad se produjo en la mucosa gástrica, mostrando la viabilidad para preparar un producto nutracéutico microencapsulado a mayor escala.

*Palabras clave:* microencapsulación, secado por aspersión, material de pared, ácidos clorogénicos, bioaccesibilidad

### Abstract

Chlorogenic acids have favorable properties for human health and can be found in high amounts in the plant extract of *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* and residues of *Theobroma cacao*; however, due to its vulnerability to variable environmental conditions, a protection mechanism is required that allows the effective delivery of its functionality. The objective of this work was to design a microencapsulated formulation by spray drying an extract of *V. patens*, *I. guayusa* and *T. cacao* residues with different wall materials, evaluate its efficiency and the bioaccessibility of specific phenolic compounds during gastrointestinal digestion (GID). The concentrated plant extract at 20 % and 40 % load was microencapsulated with maltodextrin (MD), mixtures of maltodextrin with gum arabic (MD-GA) and maltodextrin with pectin (MD-P). The results indicated the formulation that presented the most outstanding characteristics was MD-GA 1.5:1(p/p) loaded at 20%, which appeared as microparticles with moderate fluidity and intermediate cohesiveness and reached  $61.8 \pm 4.5\%$  yield,  $91.1 \pm 8.3\%$  efficiency, with TPC of  $13.5 \pm 5.2$  mg EAG/g, TFC of  $25.8 \pm 0.1$  mgEQ/g and for DPPH  $50.4 \pm 1.4$   $\mu\text{molET/g}$ . SEM, DSC and FTIR showed microcapsules with irregular morphology with a rough and seamless surface, which were more thermally stable and formed inclusion complexes. Furthermore, during simulated GID the greatest bioaccessibility occurred in the gastric mucosa, showing the feasibility to prepare a microencapsulated nutraceutical product on a larger scale.

**Keywords:** microencapsulation, spray drying, wall material, chlorogenic acids, bioaccessibility

## Índice de contenido

|                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resumen.....                                                                             | 2  |
| Abstract.....                                                                            | 3  |
| 1. Introducción.....                                                                     | 7  |
| 2. Materiales y métodos.....                                                             | 10 |
| 2.1. Materiales .....                                                                    | 10 |
| 2.2. Material vegetal .....                                                              | 10 |
| 2.3. Preparación de las dispersiones .....                                               | 11 |
| 2.4. Proceso de microencapsulación .....                                                 | 11 |
| 2.5. Caracterización físico-química de los microencapsulados.....                        | 11 |
| 2.6. Caracterización bioquímica de los microencapsulados.....                            | 12 |
| 2.8. Rendimiento del proceso de microencapsulación .....                                 | 13 |
| 2.9. Eficiencia de microencapsulación .....                                              | 14 |
| 2.10. Caracterización cualitativa de la eficiencia de microencapsulación .....           | 14 |
| 2.11. Cuantificación de los polifenoles en el microencapsulado .....                     | 15 |
| 2.12. Bioaccesibilidad de los microencapsulados mediante digestión <i>in vitro</i> ..... | 15 |
| 2.13. Análisis Estadístico .....                                                         | 17 |
| 3. Resultados y Discusión .....                                                          | 17 |
| 3.1. Caracterización físico-química de los microencapsulados.....                        | 17 |
| 3.2. Caracterización bioquímica de los microencapsulados.....                            | 21 |
| 3.3. Rendimiento y Eficiencia de microencapsulación.....                                 | 23 |
| 3.4. Caracterización cualitativa de la eficiencia de microencapsulación.....             | 25 |
| 3.5. Cuantificación de los polifenoles más abundantes del microencapsulado .....         | 31 |
| 3.6. Bioaccesibilidad de los microencapsulados mediante digestión <i>in vitro</i> .....  | 33 |
| 4. Conclusiones.....                                                                     | 35 |
| Agradecimientos.....                                                                     | 36 |
| Referencias.....                                                                         | 37 |
| Anexos .....                                                                             | 46 |

### Índice de figuras

|                 |                                                                                                                                                                                        |    |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> | Caracterización fisicoquímica de los polvos microencapsulados                                                                                                                          | 18 |
| <b>Tabla 2.</b> | Contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los microencapsulados                                                                                                   | 22 |
| <b>Tabla 3.</b> | Rendimiento y eficiencia de microencapsulación del extracto de <i>Vernonanthura patens</i> , <i>Ilex guayusa</i> y residuos de <i>Theobroma cacao</i> con las distintas matrices pared | 24 |
| <b>Tabla 4.</b> | Contenido de bioactivos principales del extracto microencapsulado <i>Vernonanthura patens</i> , <i>Ilex guayusa</i> y residuos de <i>Theobroma cacao</i>                               | 32 |

### Índice de tablas

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> | Micrografías electrónicas de barrido del extracto microencapsulado de <i>V. patens</i> , <i>I. guayusa</i> y residuos de <i>T. cacao</i> secado por atomización                                                                                                                                         | 27 |
| <b>Figura 2.</b> | Termogramas DSC del extracto microencapsulado de <i>V. patens</i> , <i>I. guayusa</i> y residuos de <i>T. cacao</i> secado por atomización. (a) mezcla MD-GA, (b) Extracto microencapsulado, (c) extracto seco                                                                                          | 28 |
| <b>Figura 3.</b> | Espectros FTIR de la microencapsulación del extracto de <i>V. patens</i> , <i>I. guayusa</i> y residuos de <i>T. cacao</i> secado por aspersión. (a) mezcla MD-GA, (b) extracto microencapsulado, (c) extracto seco, (d) espectros superpuestos: mezcla MD-GA, extracto microencapsulado, extracto seco | 30 |
| <b>Figura 4.</b> | Bioaccesibilidad (%) de bioactivos específicos del extracto de <i>V. patens</i> , <i>I. guayusa</i> y residuos de <i>T. cacao</i> microencapsulado con MD-GA al 20 y 40% de carga después de la digestión gástrica simulada                                                                             | 33 |

# DISEÑO DE UN FORMULADO MICROENCAPSULADO CON POTENCIAL PROPIEDAD NUTRACÉUTICA, A PARTIR DE UN EXTRACTO OPTIMIZADO DE *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* Y RESIDUOS DE *Theobroma cacao* CON DISTINTOS MATERIALES DE PARED

Oscar Rodríguez<sup>1</sup>, Patricia Manzano <sup>1</sup>, Johana Ortiz <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

pmanzano@espol.edu.ec

<sup>2</sup> Departamento de Biociencias, Facultad de Ciencias Químicas Universidad de Cuenca

johana.ortiz@ucuenca.edu.ec

---

## 1. Introducción

En la actualidad, cada vez es más recurrente el acudir a formas naturales que sirvan como fuente de compuestos bioactivos y que presenten potenciales propiedades de interés nutracéutico para uso comercial (Castro-López et al., 2020; Piccolella et al., 2019; Taroncher et al., 2021). Éstos pueden encontrarse en numerosas plantas o residuos vegetales agroindustriales (Abdullahi R & Mainul, 2020; Matthäus, 2002; Varzakas et al., 2016). En particular, los componentes fitoactivos de los extractos de plantas pueden incluirse de manera natural en cualquier régimen de dieta y consiguen prevenir ciertas enfermedades no transmisibles (Ben-Shabat et al., 2020; Piccolella et al., 2019).

Existen algunas investigaciones de las propiedades medicinales de mezclas optimizadas de distintos extractos de plantas que, por efecto sinérgico, se mejora su actividad terapéutica y brinda perfiles sensoriales adecuados (Crespo et al., 2019; Vieira et al., 2019; Y. Yang et al., 2014). Recientes estudios destacan a *Illex Guayusa*, *Vernonanthura Patens* y ciertos residuos agroindustriales como la cascarilla de *Theobroma cacao* por poseer un alto contenido de metabolitos secundarios poco aprovechados. Entre estos metabolitos se destaca el ácido clorogénico (ACG) (Arteaga-Crespo et al., 2020; Manzano et al., 2017, 2021; Manzano Santana et al., 2018), que es un éster formado por el ácido cinámico y ácido quínico. El ACG presenta varios isómeros, siendo el más abundante el 5- ácido cafeoilquínico (5-CQA) (Loaiza-Campiño et al., 2020; Santana-Gálvez et al., 2017). Este compuesto afecta el

metabolismo de lípidos y glucosa en los desórdenes metabólicos (Meng et al., 2013; Ramli et al., 2021). Varios trabajos han indicado la acción nutracéutica del ACG para la prevención del síndrome metabólico, por sus características multifuncionales como antioxidante, antiinflamatorio, antidislipidémico, antidiabético y antihipertensivo (Ramli et al., 2021; Yamagata, 2018). Además, se ha indicado que el uso de extractos acuosos de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* como base para una bebida funcional que contiene compuestos polifenólicos tales como ácidos clorogénicos y quercetina. Así también, alcaloides como cafeína y teobromina que brindan efectos coadyuvantes para la prevención de enfermedades asociadas con el síndrome metabólico (Paladines-Santacruz et al., 2021; Taroncher et al., 2021).

Los ácidos clorogénicos y ácido cafeico posiblemente sean las moléculas fitoquímicas de tipo fenólico más abundantes presentes en extractos del género *Ilex* y *Vernonanthura* (Gebara et al., 2017; Gugliucci et al., 2009; Igual et al., 2013). Sin embargo, estos compuestos son inestables por ser propensos a la oxidación cuando están expuestos a la luz, temperaturas altas, pH y contenido de humedad (Cegledi et al., 2021; Cutrim et al., 2019; Hussain et al., 2018). Además, estos compuestos presentan sabor amargo y su incorporación directa se dificulta en productos de consumo humano (Costamagna et al., 2017; Ferreira-Santos et al., 2021; Loaiza-Campiño et al., 2020), por lo cual, es necesario eliminar los solventes presentes en los extractos con el fin de estabilizarlos antes de su incorporación en productos alimenticios para facilitar su manipulación (Sawale et al., 2017). Consecuentemente, se torna necesario acudir a distintas técnicas de presentación de productos terminados para el mejoramiento de su biodisponibilidad (Corrêa-Filho et al., 2019; Grgić et al., 2020). En este contexto, cada vez es más popular el uso de la microencapsulación como una alternativa de conservación y estabilidad física durante el procesamiento, almacenamiento y administración de compuestos bioactivos (Castro-López et al., 2020; Mohd Yusop et al., 2017).

La microencapsulación es un proceso en el que se enmascara el principio activo en una matriz de revestimiento, generalmente polimérica, capaz de liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Murugesan & Orsat, 2012; Pudziuvėlyte et al., 2019). A su vez, el secado por aspersión es una técnica de microencapsulación popularizada por mostrar bajo costo, rapidez, efectividad, fácil escalado, disponibilidad y protección (Bahrim et al., 2020; Sun et al., 2020). Conjuntamente con la elección de un material enmascarante óptimo, sea natural o sintético, que asegure la formación de una matriz biodegradable, resistente a la oxidación, no ser reactivo con el núcleo, mostrar estabilidad de emulsión y que extienda la duración del producto final, influye directamente en la eficiencia del proceso de enmascaramiento (Corrêa-Filho et al., 2019; Lourenço et al., 2020).



Existen estudios de la utilización de algunos tipos de agentes microencapsulantes para la producción de microcápsulas utilizando polímeros de carbohidratos, proteínas y lípidos (Dadi et al., 2019; Ferreira-Santos et al., 2021). Entre los más usados, se destacan maltodextrinas y la goma arábiga que pertenecen a la categoría de polisacáridos (Hussain et al., 2018; Rezende et al., 2018). Igualmente, el manejo de goma arábiga es muy recurrida al tratarse de un material de pared eficaz debido a su formación estable de emulsión y buena retención de volátiles (Corrêa-Filho et al., 2019; Grgić et al., 2020).

Ciertos trabajos indican la preparación de mezclas de compuestos que actúen como matriz encapsulante para proveer mejoramiento de las propiedades de encapsulación y su eficiencia (Dadi et al., 2019; Sun et al., 2020). De esta forma, se reporta el uso de la combinación de maltodextrinas con otros polímeros activos, como la goma arábiga, como materiales de pared (Ahmadian et al., 2019; Akhavan Mahdavi et al., 2016; Rezende et al., 2018). No obstante, son escasas las investigaciones que incentivan el empleo de extractos de residuos vegetales para el desarrollo de productos funcionales con alentadoras propiedades terapéuticas y dispuestas en forma de micropartículas (Pattnaik et al., 2021).

Adicionalmente, es importante una visión integral para comprender el proceso fisiológico relacionado con la bioaccesibilidad de ácidos clorogénicos en las diversas etapas digestivas en el sistema gastrointestinal humano (Rojo-Poveda et al., 2020; Ștefănescu et al., 2022). Esto se puede lograr mediante metodologías de digestión simulada que utilizan modelos *in vitro*; como los estáticos, que son los más descritos y manejados (Bernardes et al., 2019; Castro-López et al., 2020). Para ello, se utilizan una proporción estandarizada de enzimas y concentraciones de sal, pH y tiempo de digestión para cada fase digestiva para recrear exactamente las condiciones *in vivo* (Ferreira-Santos et al., 2021; Iturri et al., 2021; Rojo-Poveda et al., 2020).

Por lo tanto, los propósitos de este estudio fueron: 1) Diseñar un formulado microencapsulado con potencial nutracéutico a base de distintos materiales de pared; 2) Evaluar la técnica de microencapsulación de un extracto de hojas de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* empleando distintos materiales encapsulantes con la medición de su eficiencia mediante técnicas físicas y analíticas especializadas; y 3) Estimar la bioaccesibilidad del extracto microencapsulado mediante simulación gástrica para la liberación de sus compuestos polifenólicos más abundantes.

## 2. Materiales y métodos

Para cumplir con los objetivos propuestos, se presenta el anexo A, que describe el esquema resumido de trabajo experimental.

### 2.1. Materiales

La maltodextrina (Foodchem, China), goma arábica (Samchon Chemical, Corea), y pectina cítrica (Foodchem, China) se utilizaron como materiales de pared. Los reactivos de fenol de folin ciocalteu 2 N, 2,2-difenil-1-picrililhidracilo (DPPH), cloruro de aluminio hexahidratado ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), quercetina, ácido gálico, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), nitrito de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ), carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ), ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ) y metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) se adquirieron de la casa Sigma-Aldrich (San. Louis, EEUU). Los estándares de ácido neoclorogénico (5-CQA), ácido criptoclorogénico (4-CQA), ácido clorogénico (3-CQA) y ácido cafeico fueron comprados a Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). El agua ultra purificada se obtuvo mediante el purificador de agua (Barnstead International, EEUU). Se utilizaron solventes grado cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como metanol (Sigma-Aldrich, Canadá), ácido acético y acetonitrilo (Sigma-Aldrich, Francia). Las soluciones madre de electrolitos de cloruro de potasio ( $\text{KCl}$ ), fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ), cloruro de magnesio hexahidratado ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), carbonato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ) y cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (San. Louis, EEUU), al igual que la pepsina porcina, pancreatina y sales biliares se adquirieron de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).

### 2.2. Material vegetal

La mezcla de material vegetal estuvo compuesta de hojas de *Ilex guayusa*. (*Aquifoliaceae*), (herbario nacional de Ecuador Código QCNE-Quito: CIBE020), obtenido de la ciudad de Taisha, Morona Santiago; hojas de *Vernonanthura patens*. (*Asteraceae*), (CIBE037), obtenido del cantón Marcabellí, El Oro; y la cascarilla de cacao provisto por Maquita Cushunchic (MCCH), Guayaquil, Guayas. De esta mezcla se obtuvo el extracto acuoso optimizado de *I. guayusa*, *V. patens* y cascarilla de *T. cacao* del Departamento de Bioprocesos y Bioproductos de ESPOL, que ha sido registrado como secreto comercial 11591SECRETOCIBE (Paladines-Santacruz et al., 2021). Posteriormente, con la finalidad de aumentar los sólidos solubles totales, el extracto se concentró al 20 y 40 % de su volumen inicial en un evaporador rotatorio (modelo Laborota 4001; Heidolph, Alemania) a 70 °C con bomba de vacío acoplada (modelo

TE-058; Tecnal). La mezcla vegetal se protegió de la luz y se almacenó en un congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Boyano-Orozco et al., 2020; Krishnaiah et al., 2012).

### **2.3. Preparación de las dispersiones**

El extracto vegetal optimizado se microencapsuló con maltodextrina (MD), mezcla maltodextrina con goma arábica (MD-GA) 1.5:1 (p/p) y mezcla maltodextrina con pectina (MD-P) 1.5:1 (p/p) como agentes encapsulantes. La dispersión se preparó utilizando el extracto concentrado al 20 y al 40 % (p/v); y agregando los materiales pared en proporción 1:1.5 (p/p) y 1:4 (p/p) respectivamente. La mezcla resultante se agitó con un agitador de velocidad constante a 300 rpm durante 90 minutos a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un sistema homogeneizado (Ahmadian et al., 2019).

### **2.4. Proceso de microencapsulación**

Para la microencapsulación mediante secado por aspersión se utilizó un mini secador por pulverización (modelo FT-30, ARMFIELD Labplant, Reino Unido) con un atomizador de fluido (diámetro interior de 5 mm). Las condiciones de secado para el experimento fueron de  $180 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  para la temperatura de entrada de aire caliente y  $60 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  para temperatura de salida de aire caliente, con 4 bar de presión y un flujo de alimentación de 7.5 ml/min (Ferreira-Santos et al., 2021).

### **2.5. Caracterización físico-química de los microencapsulados**

#### **2.5.1. Contenido de humedad**

Se pesaron con precisión 2 g de cada uno de los microencapsulados y se secaron en un horno de aire caliente a  $105 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta un peso constante. El contenido de humedad (%) se calculó como la diferencia entre el peso inicial y el peso seco dividido por el peso inicial del microencapsulado (AOAC, 1990).

#### **2.5.2. Índice de Carr y Relación de Hausner**

Se pesaron 2 g de las micropartículas del extracto vegetal secados por atomización y se colocaron cuidadosamente en una probeta graduada de 10 ml sin tocar la pared interior. El volumen que estaba ocupado por las micropartículas se registró como  $V_o$ . El mismo cilindro lleno de las micropartículas se golpeó manualmente 100 veces, y el nuevo volumen ocupado se registró como  $V_f$ . Se calculó la densidad aparente ( $\rho_a$ ) y compacta ( $\rho_c$ ) utilizando las ecuaciones (1) y (2), respectivamente (Chen et al., 2021).

$$\rho_a \left( \frac{g}{ml} \right) = \frac{\text{masa del polvo}}{V_o} \quad (1)$$

$$\rho_c \left( \frac{g}{ml} \right) = \frac{\text{masa del polvo}}{V_f} \quad (2)$$

La fluidez de los microencapsulados se expresó como índice de Carr (IC) y para la cohesividad se usó a la relación de Hausner (RH), que fueron calculados de acuerdo con las ecuaciones (3) y (4), respectivamente (Pudziuelyte et al., 2019).

$$IC = \frac{\rho_c - \rho_a}{\rho_c} \times 100 \quad (3)$$

$$RH = \frac{\rho_c}{\rho_a} \quad (4)$$

### 2.5.3. Humectabilidad

La humectabilidad se evaluó como el tiempo necesario para que una masa del microencapsulado (50 mg) colocada en la superficie de un volumen fijo de agua destilada (20 ml) se sumerja completamente sin agitación. Las pruebas se realizaron a 20 °C (Lourenço et al., 2020).

### 2.5.4. Solubilidad

Una masa de 100 mg de cada microencapsulado se dispersó en 10 ml de agua destilada utilizando un agitador magnético (ARE, Velp) durante 5 minutos a 20 °C. A continuación, la solución se centrifugó (Hettich, modelo EBA20, Alemania) a 5100 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se transfirió a una cápsula de porcelana previamente pesada y se secó al horno a 70 °C durante la noche. La solubilidad de las microencapsulados (%) se determinaron por la relación entre la masa de sobrenadante seco y la masa inicial de las micropartículas añadidas (Lourenço et al., 2020).

## 2.6. Caracterización bioquímica de los microencapsulados

### 2.6.1. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales (CPT) de las microcápsulas del extracto vegetal fueron cuantificados con el reactivo folin-ciocalteu (Waterhouse AL, 2002). Se añadieron 100 µl del reactivo, 200 µl de la muestra y 1580 µl de agua al tubo de ensayo, luego la solución se agitó y se dejó reaccionar durante 1 minuto. Posteriormente, se agregaron 300 µl de 1 N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y volvió a agitar. La solución se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas en la

oscuridad. La absorbancia se midió a 765 nm utilizando un espectrofotómetro (Synergy™ 5, BioTek). Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico (anexo B) para estimar el contenido fenólico de las muestras. La ecuación obtenida de la curva de calibración del ácido gálico fue  $y = 0.008x + 0.0016$  ( $R^2=0.9998$ ). La concentración fenólica total se expresó en mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por g de peso seco (mg EAG / g).

### 2.6.2. Contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales de los extractos microencapsulados fueron determinados mediante el ensayo colorimétrico del cloruro de aluminio (Min et al., 2012). Para ello se hicieron reaccionar 250 µl de muestra diluidas con 1 ml de Agua MilliQ y 75 µl de NaNO<sub>2</sub> al 5 % durante 5 minutos con agitación. Posteriormente se adicionaron 150 µl AlCl<sub>3</sub> en agitación constante durante 6 minutos, y finalmente se agregaron 500 µl de NaOH 1 M con 500 µl de agua ultra purificada. La mezcla fue llevada al vortex y centrifugada a 4500 rpm por 10 minutos. Se midió la absorbancia de la mezcla a 510 nm utilizando un espectrofotómetro de microplaca (Synergy™ 5, BioTek). Se utilizó una curva de calibración de quercetina (anexo C) para estimar el contenido flavonoides de las muestras. La ecuación obtenida de la curva de calibración de quercetina fue  $y = 0.0005x + 0.0027$  ( $R^2=0.9978$ ) y los resultados se expresaron como mg de equivalente de quercetina (EQ) por g de peso seco (mgEQ / g).

### 2.6.3. Determinación actividad antioxidante

Se transfirieron 200 µl de cada microencapsulado por triplicado y se añadieron 3.2 ml de una solución de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) 0.004% en etanol (p/v) en una microplaca de 96 pocillos. La mezcla de la reacción se incubó durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La capacidad de los microencapsulados para eliminar el radical DPPH se evaluó midiendo la disminución de la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas multidetectores (Synergy™ 5, BioTek). Se utilizó una curva de calibración con trolox (anexo D) para estimar la actividad antioxidante de las muestras. La ecuación obtenida de la curva de calibración de trolox fue  $y = 9.3616x - 6.1808$  ( $R^2=0.9982$ ) Los resultados se expresaron en micromoles de equivalente Trolox por gramo de micropartículas (µmolET/g) para la solución inicial a ser micropartículas secas y reconstituidos (Deng et al., 2011).

## 2.8. Rendimiento del proceso de microencapsulación

Se determinó el rendimiento del proceso mediante la relación entre la masa del extracto vegetal de *I. guayusa*, *V. patens* y cascarilla de cacao microencapsulado obtenido y la masa de sólidos del extracto vegetal presente en el líquido alimentado al secador, expresándola en porcentaje (Calero et al., 2008).

## 2.9. Eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación (EM) se determinó pesando 100 mg de cada microencapsulado en 2 ml de agua destilada. Posteriormente, se sonicó durante 10 minutos, luego se centrifugó a 4500 rpm durante 10 minutos para la obtención de CPT y se midieron las absorbancias en el espectrofotómetro. Este procedimiento se repitió con etanol al 70 % para la obtención de polifenoles superficiales (CPS) (Sawale et al., 2017). Se utilizó la siguiente ecuación para la eficiencia de microencapsulación.

$$EM (\%) = \frac{CPT - CPS}{CPT} \times 100 \quad (5)$$

## 2.10. Caracterización cualitativa de la eficiencia de microencapsulación

### 2.10.1. Morfología de las microcápsulas

Se obtuvieron micrografías que muestran la caracterización morfológica del microencapsulado que presentó el mejor rendimiento y eficiencia de microencapsulación utilizando un microscopio electrónico de barrido (SEM Vega LM, Tescan, EEUU) con un voltaje de excitación de 15 kV y con incrementos de 100 a 1.500 veces para una mejor visualización. Las microcápsulas fueron fijadas en trozos de cinta adhesiva de doble cara y recubiertas con una fina capa de oro (Sharma et al., 2017).

### 2.10.2. Análisis térmico

Se realizaron análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) del extracto vegetal seco, material de pared MD-GA y el microencapsulado MD-GA al 20% de carga utilizando un DSC NETZSCH 204F1 Phoenix (Netzsch Gerätebau GmbH, Graz, Austria). Cada muestra (2 a 5 mg) se colocó en un mini crisol de aluminio sellado y se calentó de 20 a 400 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo purga constante de nitrógeno a un caudal de 50 ml/min (Kang et al., 2019).

### 2.10.3. Análisis de las interacciones intermoleculares

Para verificar el proceso de encapsulado, el extracto atomizado, la mezcla de encapsulantes y extracto microencapsulado fueron analizados mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrómetro Spectrum TwoFT-IR (Perkin Elmer, EUA) con rango de longitud de onda de 4000 hasta 550 cm<sup>-1</sup> (Mazuco et al., 2018).

### 2.11. Cuantificación de los polifenoles en el microencapsulado

Para este propósito, muestras de 20 mg del extracto microencapsulado al 20 y al 40 % de carga con MD-GA, como material de pared, fueron homogenizados con 1.5 ml de una solución de metanol/agua 50:50 (v/v). Inmediatamente, las mezclas fueron sonicadas en un baño ultrasónico (Branson, modelo 3510RDTH, EEUU) durante 15 minutos a temperatura ambiente ( $23 \pm 2$  °C). Posteriormente se filtraron con una jeringa acoplada a un filtro de membrana (0.22  $\mu$ m de diámetro). Luego se realizó una dilución 1/10 (100  $\mu$ l de extracto reconstituido y 900  $\mu$ l de una solución de metanol/agua 50:50 (v/v)) y se depositó en viales ámbar para ser analizado por el equipo de HPLC (Pilatti-Riccio et al., 2019).

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un sistema HPLC Serie 1200 (Agilent Technologies, St. Clara, CA, EE. UU.), provisto de una bomba cuaternaria, automuestreador con termostato y acoplado a un detector de arreglo de diodos DAD equipado con una columna Zorbax C18 (250 mm x 4.6 mm x 5  $\mu$ m) (Agilent Technologies, St. Clara, CA, EE. UU.) a una temperatura de 30 °C. El volumen de inyección fue de 10  $\mu$ l, con un caudal de 1 ml/min y se empleó como fase móvil A una solución acuosa acidificada con ácido acético al 0.3% (v/v), como fase móvil B una mezcla 50:50 (v/v) de acetonitrilo/agua acidificada con ácido acético 0.3% (v/v) y fase móvil C de acetonitrilo. La separación se realizó con una elución tipo gradiente que consistió con inicio de 10 % de la fase móvil B hasta 2 minutos, seguido de un incremento al 55 % B hasta los 27 minutos, manteniéndolo hasta los 37 minutos. Posteriormente 100% C desde los 39 minutos, manteniéndolo hasta los 43 minutos, para finalmente regresar a las condiciones iniciales de 10% B a los 43 minutos, mantenidos por 0.5 minutos adicionales para su equilibración. La detección se realizó a una longitud de onda de 254, 280 y 320 nm. Para el análisis, se utilizó el software Chemstation (Agilent Technologies, St. Clara, CA, EE. UU.) (Saquicela Carpio, 2018). Los compuestos fenólicos individuales se identificaron tentativamente en base de sus espectros característicos UV-Visibles y los tiempos de retención de los estándares. Para su cuantificación se contó con los estándares de ácido neoclorogénico (5-CQA), ácido criptoclorogénico (4-CQA), ácido clorogénico (3-CQA) y ácido cafeico. Todas las muestras fueron extraídas por triplicado e inyectadas tres veces. Los resultados fueron expresados como mg.g<sup>-1</sup>de microencapsulado.

### 2.12. Bioaccesibilidad de los microencapsulados mediante digestión *in vitro*

Las muestras microencapsuladas del extracto vegetal con MD-GA se sometieron al modelo de digestión simulada para investigar la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos más abundantes. Se siguió el método de digestión estática *in vitro* INFOGEST que implicó de tres

etapas distintas: fase oral, fase gástrica y fase intestinal (Brodkorb et al., 2019). Las digestiones simuladas se llevaron a cabo por triplicado.

Para la fase oral (FO), se homogenizaron 500 mg de cada microencapsulado en 5 ml de agua ultra purificada y fue digerida con una relación estandarizada de 1:1 (v/v) de muestra a fluido oral simulado. El fluido salival simulado (FSS) estaba compuesto por soluciones madre de electrolitos de KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  y agua, con una solución añadida de  $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$  y ajustado a un pH de 7. Las muestras se sometieron a fase oral durante 2 minutos a 37 °C en una incubadora de agitación (Heidolph, modelo Unimax 1010®, Alemania) a 95 rpm.

Para la fase gástrica (FG), el fluido gástrico simulado (FGS) se precalentó a 37 °C y se añadió a la mezcla obtenida previamente en la fase oral en una proporción de 1:1 (v/v). El FGS contenía soluciones electrolíticas KCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , junto con una solución de  $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$  (0.03 M), solución de pepsina porcina (2000 U/ml en la mezcla de digestión final) y agua. El pH de las muestras se ajustó a 3 añadiendo HCl (1 M) y la mezcla se homogeneizó e incubó durante 2 horas en una incubadora de agitación (95 rpm).

Durante la fase intestinal (FI), se agregó fluido intestinal simulado (FIS) precalentado a la mezcla obtenida en la fase gástrica para lograr una relación final de 1:1 (v/v). FIS estaba compuesto por soluciones madre de electrolitos como se describe en el protocolo INFOGEST, con solución de sales biliares y pancreatina añadida. El pH se fijó en 7 utilizando NaOH (1 M) y la mezcla se homogeneizó e incubó durante 2 horas a 37°C en una incubadora de agitación a 95 rpm (Brodkorb et al., 2019).

Se recogieron muestras de las tres fases de digestión simuladas y se centrifugaron inmediatamente durante 10 minutos a 3400 rpm (Hettich, modelo EBA20, Alemania) para minimizar la actividad enzimática y eliminar el material no digerido. El sobrenadante, considerado como el que contiene los compuestos fenólicos liberados de las microcápsulas, se filtró (filtro de nylon Millipore de 0,22  $\mu\text{m}$ ) para separar la fracción micelar y se sometió a un análisis de fenoles específicos mediante HPLC-DAD, como se describió en la previamente (sección 2.11.). Los valores de los compuestos fenólicos individuales encontrados (5-CQA, 4-CQA, 3-CQA y ácido cafeico) se normalizaron para el factor de dilución inducido por la adición de fluidos digestivos.

Finalmente, se determinó la bioaccesibilidad (%) evaluando el efecto después de la composición de la matriz sobre la digestión de los principales ácidos clorogénicos y ácido



cafeico (Vilas-Boas et al., 2020). El porcentaje de bioaccesibilidad se calculó de acuerdo con la Ecuación (6)

$$\text{Bioaccesibilidad (\%)} = \frac{A}{B} \times 100 \quad (6)$$

Donde, A es el compuesto bioactivo (mg/g) cuantificado en cada etapa de la digestión y B es el compuesto bioactivo (mg/g) cuantificado en la matriz no digerida.

### 2.13. Análisis Estadístico

Los resultados se presentaron como el promedio  $\pm$  desviación estándar de los tres experimentos independientes (n=3). Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con el post hoc para todos los parámetros; caracterización físico-química del microencapsulado (humedad, IC, RH, humectabilidad, solubilidad), caracterización bioquímica (CPT, CFT, DPPH), el rendimiento, eficiencia de microencapsulación, contenido de bioactivos específicos (5- CQA, 4CQA, 3CQA y ácido cafeico) y bioaccesibilidad de compuestos fenólicos predominantes. Para todos los análisis estadísticos se aplicó un nivel de significancia del 5% y fueron realizados en el software SPSS versión 21.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Caracterización físico-química de los microencapsulados

Debido a la complejidad que presentan los materiales granulares en su caracterización por el inadecuado contenido de humedad, tendencia a la aglomeración, desgaste de partículas, pegajosidad, etc.(Cuq et al., 2011); se utilizan distintos parámetros para la medición de su calidad (Aliakbarian et al., 2015; Hussain et al., 2018; Piccolella et al., 2019).

La tabla 1 muestra los valores de humedad, índice de Carr, relación de Hausner, humectabilidad y solubilidad presentados por las micropartículas del extracto vegetal micro encapsuladas mediante secado por aspersión con MD, MD-GA y MD-P.

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica de los microencapsulados

| Matriz         | Carga (%) | Humedad (%)          | Índice de Carr (%)      | Relación Hausner      | Humectabilidad (s)      | Solubilidad (%)       |
|----------------|-----------|----------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| MD             | 20        | 4.3±0.3 <sup>a</sup> | 25.0±1.5 <sup>a</sup>   | 1.3±0.0 <sup>a</sup>  | 355.7±2.5 <sup>a</sup>  | 99.0±0.0 <sup>a</sup> |
|                | 40        | 4.3±0.5 <sup>a</sup> | 23.3±0.7 <sup>ab</sup>  | 1.3±0.0 <sup>a</sup>  | 130.3±8.5 <sup>a</sup>  | 99.0±0.0 <sup>a</sup> |
| MD+GA (1.5: 1) | 20        | 3.4±0.1 <sup>b</sup> | 21.4±1.7 <sup>abc</sup> | 1.3±0.0 <sup>ab</sup> | 288.3±4.7 <sup>a</sup>  | 99.0±0.0 <sup>a</sup> |
|                | 40        | 4.0±0.3 <sup>a</sup> | 18.7±1.8 <sup>bc</sup>  | 1.2±0.0 <sup>b</sup>  | 251.0±4.4 <sup>a</sup>  | 99.0±0.0 <sup>a</sup> |
| MD+P (1.5:1)   | 20        | 2.7±0.3 <sup>c</sup> | 13.2±3.0 <sup>d</sup>   | 1.1±0.0 <sup>bc</sup> | 1076.3±5.5 <sup>b</sup> | 99.0±0.4 <sup>a</sup> |
|                | 40        | 2.7±0.2 <sup>c</sup> | 17.0±0.8 <sup>cd</sup>  | 1.2±0.0 <sup>c</sup>  | 227.3±4.2 <sup>a</sup>  | 98.4±0.6 <sup>a</sup> |

Los valores se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ( $p<0.05$ ). Matriz: material pared utilizado, MD: maltodextrina, GA: goma arábica P: pectina, (1.5:1): proporción de matriz en la mezcla pared, Carga: concentración extracto vegetal, s: segundos.

### 3.1.1. Contenido de Humedad

El contenido de humedad presente en las micropartículas del extracto vegetal señalaron el agua disponible en el sistema alimenticio microencapsulado, determinó la estabilidad y condiciones de almacenamiento del producto (Hussain et al., 2018; Rezende et al., 2018). Así, un bajo contenido de humedad fue imprescindible para evitar la formación de grumos, evitando de esta manera la aglomeración de las partículas que a su vez pudo afectar tanto el flujo como la retención del principio activo (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Zorzenon et al., 2020).

Los valores de humedad de las micropartículas obtenidas, variaron entre  $2.7 \pm 0.2$  y  $4.3 \pm 0.5$  % (tabla 1). Todos los valores de contenido de humedad presentados cumplieron con los estándares establecidos para uso industrial, considerando una humedad igual o menor al 5 % como óptima para reducir suficientemente la contaminación por microorganismos (Fenoglio et al., 2021; Sun et al., 2020; B. Yang et al., 2022). Dichos valores señalaron una adecuada transferencia de calor y masa que se reflejó en una evaporación acelerada del agua atribuidas a las condiciones de procesamiento (Fenoglio et al., 2021; Pudziulyte et al., 2019). Por lo tanto, el contenido de humedad de las microcápsulas producidas en este estudio no alteraría desfavorablemente la capacidad del microencapsulado para almacenarse de manera confiable durante un período prolongado de tiempo (B. Yang et al., 2022).

Por otro lado, en este estudio se evidenció que los agentes microencapsulantes utilizados, actuaron de forma óptima respecto al contenido de humedad ya que un menor contenido de dicho parámetro limitó la capacidad del agua a incorporarse en la estructura química del

material de pared (Tolun et al., 2016; J. Zhang et al., 2020). Es probable que las fuerzas hidrófobas entre grupos metoxilo de la mezcla MD-P hayan otorgado una mayor estabilidad reflejada en valores más bajos de humedad (de Moura et al., 2018; Sansone et al., 2011), a diferencia del uso de MD o mezcla MD-GA que tienen un alto número de ramificaciones con grupos hidrófilos, y por ende lograrían unirse fácilmente a las moléculas de agua del ambiente durante la manipulación de las micropartículas después del proceso de secado (Jimenez-Gonzalez et al., 2018; Tolun et al., 2016; Xiao et al., 2021).

### 3.1.2. IC y RH

Las micropartículas generadas mediante secado por aspersión fueron sometidas a un análisis de control de calidad tomando en cuenta factores como la fluidez y cohesividad mediante la estimación del IC y RH, respectivamente (Baranauskaite et al., 2017; Pudziuvelyte et al., 2019). Los valores de estos parámetros presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al material de pared utilizado. En la tabla 1 se muestra un rango de  $13.2 \pm 3.0$  a  $25.0 \pm 0.3$  % para el IC y un intervalo de  $1.1 \pm 0.0$  a  $1.3 \pm 0.0$  para RH.

El IC más bajo manifestó una mejor fluidez del microencapsulado, mientras que una alta RH mostró que las micropartículas fueron más cohesivas y con menor capacidad de fluir libremente (Chen et al., 2021; Nawas et al., 2019). De tal manera, las microcápsulas preparadas con la mezcla MD-P y 20 % de carga fueron encasilladas como polvos con muy buena fluidez ( $15 \% > IC > 11$  %), seguidas de las mezclas MD-P, MD-GA al 40 % de carga que mostraron buena fluidez ( $20 \% > IC > 14$  %) y, finalmente, las micropartículas que contenían MD-GA con el 20 % de carga; junto con las que contenían MD sola al 20 y 40 % de carga presentaron flujo moderado ( $35 \% > IC > 19$  %). Mientras tanto, para RH todos los microencapsulados siguieron una cohesividad intermedia ( $1.4 > RH > 1.2$ ), excepto para MD-P, 20% de carga que presentó alta cohesividad ( $RH > 1.4\%$ ) (Lourenço et al., 2020).

Las diferencias expuestas podrían ser explicadas por la formación de fuerzas de Van der Waals y fuerzas electrostáticas generadas por la gran superficie de contacto entre las micropartículas y su morfología permitiendo una mayor cohesión y menor fluidez (Baranauskaite et al., 2017; Dadi et al., 2019; Lourenço et al., 2020). Adicionalmente, se notó que la incorporación de P o GA al material de pared mejoró la fluidez y cohesividad. Además, se evidenció la influencia del contenido de humedad de las muestras microencapsuladas. Mientras mayor fue el contenido de humedad, mayor pudo haber sido la fuerza entre micropartículas debido a la formación de puentes líquidos en la etapa de aspersión del proceso de microencapsulación (Chen et al., 2021; Simons et al., 2004), que resultaron del primer contacto de la solución de material de pared y extracto vegetal acuoso para la

generación de microcápsulas finas que colisionaron entre sí y que al evaporarse dieron lugar a enlaces sólidos, permitiendo que las micropartículas permanezcan pegadas entre sí (Arenas-Jal et al., 2020; Lourenço et al., 2020), lo que pudo admitir la formación de una nueva estructura aglomerada contribuyendo así a una menor fluidez (Basyigit & Hayoglu, 2019; Chen et al., 2021).

### 3.1.3. Humectabilidad

La humectabilidad fue relacionada con la propiedad de las microcápsulas para absorber agua en su superficie como primer paso de su reconstitución (Nawas et al., 2019; Pudziuelyte et al., 2019). En este estudio se observaron diferencias significativas en el tiempo de humectabilidad de las diferentes micropartículas ( $p < 0.05$ ), los mismos que variaron entre  $130.3 \pm 8.5$  y  $1076.3 \pm 5.5$  s (tabla 1). Respaldándose en que mientras menor fue el tiempo para que las micropartículas se disuelvan en agua, mejor sería su atributo físico en la calidad del microencapsulado como producto para el consumidor (Lourenço et al., 2020; Mahdi et al., 2020).

Se reveló que las micropartículas producidas con matrices de MD-P presentaron menor humectabilidad, mientras que las que solo contenían MD fueron las más humectables. Igualmente, aquellas que presentaron mayor concentración de material de pared prolongaron su tiempo de humectabilidad (Jahan & Onay, 2020; Pudziuelyte et al., 2019). Estos hallazgos sugirieron que la concentración ligeramente más alta de carbohidratos en MD pudo permitir una absorción de humedad más rápida en comparación con la GA y P, que tienen partes hidrófobas con capacidad de absorción de humedad reducida (Basyigit & Hayoglu, 2019; Jimenez-Gonzalez et al., 2018). Así también, las micropartículas producidas probablemente tuvieron mayor espacio intermicroparticular, lo que les permitiría la formación de canales de partículas que aceleren la incorporación de agua y la humectación de las micropartículas (Jimenez-Gonzalez et al., 2018).

La mejor humectabilidad de las microcápsulas del presente estudio fue el correspondiente a aquel preparado con MD con 40% de carga. Esta humectabilidad fue menor al compararla con rangos reportados en la microencapsulación de un extracto rico en polifenoles de *Glycyrrhiza glabra* (180-235 s), micropartículas de orégano turco (213-733 s) y microcápsulas de extracto de cidra (712- 866 s) (Baranauskaite et al., 2017; Basyigit & Hayoglu, 2019; Mahdi et al., 2020).

### 3.1.4. Solubilidad

El último paso de la disolución de partículas es la solubilidad en agua, que es una propiedad importante que puede afectar la disponibilidad de los compuestos bioactivos microencapsulados, al estar sujetos a rehidratación cuando se usan como ingrediente alimentario (Baranauskaite et al., 2017; Jahan & Onay, 2020; Lourenço et al., 2020).

La presencia de microencapsulados bajos en solubilidad puede causar problemas de procesamiento (Jahan & Onay, 2020). Además, se genera una baja absorción en el intestino si los compuestos son insolubles, lo que conlleva a una baja bioaccesibilidad (Zorzenon et al., 2020). En esta investigación todas las micropartículas producidas mostraron buena solubilidad en agua y no difirieron entre ellos ( $p < 0.05$ ). La solubilidad varió entre  $98.4 \pm 0.6$  y  $99.0 \pm 0.0$  %. Estos valores fueron esperados al utilizar materiales de pared altamente solubles en agua que seguramente brindaron una mejor disponibilidad de superficie de área entre las microcápsulas para el proceso de hidratación (Hussain et al., 2018; Rezende et al., 2018). Al mismo tiempo, pudieron haber incentivado la capacidad de propagación de las partículas, produciendo microesferas no aglomeradas, mejorando su solubilidad (Ahmadian et al., 2019; Rezende et al., 2018).

Los valores alcanzados en el presente estudio fueron similares a los descritos en la microencapsulación de extractos bioactivos obtenidos de la pulpa y residuos de *Malpighia emarginata*, microcápsulas de orégano turco, microencapsulado de aceite de carpa plateada y la microencapsulación de compuestos fenólicos extraídos de residuos de maíz mediante secado por atomización y con la utilización de MD o mezclas binarias con MD como material de pared (Baranauskaite et al., 2017; Nawas et al., 2019; Pashazadeh et al., 2021; Rezende et al., 2018).

## 3.2. Caracterización bioquímica de los microencapsulados

El CPT y CFT fueron examinados para evaluar el efecto del proceso de secado por aspersión en los compuestos bioactivos y DPPH para su actividad antioxidante del extracto optimizado de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao*. Se obtuvieron valores en mg GAE/ g peso seco de  $3.8 \pm 0.6$  a  $18.9 \pm 1.2$  para el TPC, mg QEq/ g peso seco de  $1.8 \pm 1.2$  a  $38.0 \pm 10.5$  para TFC y  $\mu\text{molTE/g}$  de micropartículas de  $19.1 \pm 1.8$  a  $69.3 \pm 0.8$  para DPPH, tal como se aprecia en la tabla 2.

Las microcápsulas que presentaron mejores resultados de TPC y TFC fueron las preparadas con MD y mezcla MD-GA al 20 y 40 % de carga ( $p < 0.05$ ). Esto se debió seguramente porque formaron una pared más estable que las conformadas por la mezcla con pectina (Ahmadian

et al., 2019; Colín-Cruz et al., 2019; de Moura et al., 2018). Por lo tanto, estas micropartículas pudieron disminuir de mejor manera la superficie de contacto con el oxígeno y otros factores ambientales desfavorables (Navarro-Flores et al., 2020; Pilatti-Riccio et al., 2019). En consecuencia, conservaron mayor contenido de polifenoles y flavonoides; y aún más en aquellas muestras con mayor proporción de material encapsulante al crear una pared más gruesa (Castro-López et al., 2020; Dadi et al., 2019).

La combinación MD-P no resultó ser la más adecuada para retener la mayor cantidad de bioactivos del extracto vegetal, probablemente debido a que no aumentó el grosor de la pared de microencapsulación o la tendencia a la gelificación, dejando porosidades en la envoltura de la microcápsula formada (de Moura et al., 2018; Maria et al., 2014; Sun et al., 2020).

**Tabla 2.** Contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los microencapsulados

| Matriz          | Carga (%) | CPT (mg GAE/ g peso seco) | CFT (mg QEq/ g peso seco) | Actividad antioxidante por DDPH (μmol TE/g) |
|-----------------|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------------|
| MD              | 20        | 11.7±3.8 <sup>ab</sup>    | 23.0±8.7 <sup>abc</sup>   | 63.4±8.9 <sup>a</sup>                       |
|                 | 40        | 18.9±1.2 <sup>a</sup>     | 38.0±10.5 <sup>a</sup>    | 68.5±0.1 <sup>a</sup>                       |
| GA+M D (1: 1.5) | 20        | 13.5±5.2 <sup>a</sup>     | 25.8±0.1 <sup>ab</sup>    | 50.4±1.4 <sup>b</sup>                       |
|                 | 40        | 14.7±3.4 <sup>a</sup>     | 35.4±14.1 <sup>a</sup>    | 69.3±0.8 <sup>a</sup>                       |
| P+MD (1:1.5)    | 20        | 3.8±0.6 <sup>b</sup>      | 1.8±1.2 <sup>c</sup>      | 19.1±1.8 <sup>c</sup>                       |
|                 | 40        | 4.6±1.4 <sup>b</sup>      | 5.1±0.3 <sup>bc</sup>     | 27.4±3.0 <sup>c</sup>                       |

Los valores se presentan como media ± desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma columna difieren significativamente (p<0.05). Matriz: material pared utilizado, MD: maltodextrina, GA: goma arábica P: pectina, (1.5:1): proporción de matriz en la mezcla pared, Carga: concentración extracto vegetal, CPT: Contenido de Polifenoles Totales con factor de dilución 50, CFT: Flavonoides totales con factor de dilución 12.5 y DDPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil con factor de dilución 12.5, GAE: equivalente de ácido gálico, QE: equivalente de quercetina, TE: equivalente de trolox.

Por su parte, la utilización de MD como agente encapsulante incentiva la interacción con compuestos fenólicos para formar complejos, los mismos que podrían incrementar su estabilidad (Navarro-Flores et al., 2020; Tolun et al., 2016; J. Zhang et al., 2020). Eventualmente, la carga negativa de los polifenoles y su estructura poli electrolítica involucran la aparición de interacciones con polisacáridos (Colín-Cruz et al., 2019; Ramakrishnan et al., 2018). Además, la GA contiene varios grupos hidroxilo en su estructura, haciendo posible la formación de enlaces de hidrógeno con el extracto vegetal y promoviendo el contenido de los bioactivos en las microcápsulas (Bernardes et al., 2019; Du et al., 2014; Pilatti-Riccio et al., 2019; Xiao et al., 2021). Adicionalmente, la inactivación de enzimas polifenol por el proceso de calentamiento durante el secado por aspersión podría provocar la escisión de la enlaces glucosídicos de azúcar fenólico, produciendo aglicones fenólicos y mejorando la reactividad

con el reactivo folin- ciocalteau, obteniéndose una alta cantidad de bioctivos en las micropartículas (Horuz et al., 2012; J. Zhang et al., 2020).

Por otro lado, la actividad de eliminación de las microcápsulas en contra del radical DPPH mostraron valores altos en los que se utilizó MD y mezcla MD-GA en relación a los de MD-P. Los resultados también indicaron que las microcápsulas con mayor efecto eliminador de radicales libres presentaron el mayor CPT y mostraron una relación directa entre la actividad antioxidante y el CPT (Rezende et al., 2018; Sawale et al., 2017; Silva Faria et al., 2020). Por ende, se sugiere que los compuestos fenólicos presentes en extractos fueron responsables de la actividad antioxidante.

Estos hallazgos concuerdan con estudios reportados de la microencapsulación de extractos ricos en polifenoles utilizando MD o mezclas binarias con MD (Dadi et al., 2019; Lourenço et al., 2020; Oracz & Zyzelewicz, 2019). No obstante, en la presente investigación los valores de CPT, CFT, DDPH fueron muy superiores en comparación con un estudio previo en el que se desarrolló un microencapsulado del extracto vegetal con MD, debido a que los sólidos solubles totales del extracto se concentraron al 20 y 40 % y por el espesor de pared formada en las micropartículas producidas (Quijano, 2019).

### **3.3. Rendimiento y Eficiencia de microencapsulación**

Se obtuvieron valores de rendimiento del proceso de secado por aspersión que oscilaron entre  $22.4 \pm 1.8$  a  $61.8 \pm 4.5$  %. El rendimiento de secado se encuentra relacionado directamente con la adhesión del microencapsulado a la cámara de secado y las pérdidas del producto debido a su pegajosidad (Di Battista et al., 2015; Nawas et al., 2019).

Como se puede apreciar en la tabla 3, el más bajo rendimiento fue con la mezcla MD-P como encapsulante y se le atribuye a la propiedad gelificante que provocó una mayor adhesión en la cámara del secador (Ahmadian et al., 2019). A su vez, el rendimiento más alto se mostró con la matriz MD-GA. Se logró apreciar menores pérdidas del producto microencapsulado para las que tuvieron el 20 % de carga y fue considerado como rendimiento satisfactorio por la recuperación superior al 50 % como criterio para un secado a escala de laboratorio y por ser estadísticamente diferente al resto de microencapsulados ( $p < 0.05$ ) (Du et al., 2014).

**Tabla 3.** Rendimiento y eficiencia de microencapsulación del extracto de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* con las distintas matrices de pared

| Matriz            | Carga (%) | Rendimiento (%)       | Eficiencia de microencapsulación (%) |
|-------------------|-----------|-----------------------|--------------------------------------|
| MD                | 20        | 33.3±1.4 <sup>a</sup> | 87.4±1.3 <sup>a</sup>                |
|                   | 40        | 28.8±3.9 <sup>a</sup> | 74.0±3.3 <sup>a</sup>                |
| GA+MD<br>(1: 1.5) | 20        | 61.8±4.5 <sup>b</sup> | 91.1±8.3 <sup>a</sup>                |
|                   | 40        | 30.4±0.7 <sup>a</sup> | 88.8±6.1 <sup>a</sup>                |
| P+MD<br>(1:1.5)   | 20        | 33.3±1.4 <sup>a</sup> | 87.00±2.2 <sup>a</sup>               |
|                   | 40        | 22.4±1.8 <sup>a</sup> | 89.9±2.9 <sup>a</sup>                |

Los valores se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ( $p < 0.05$ ). Matriz: material pared utilizado, MD: maltodextrina, GA: goma arábica P: pectina, (1.5:1): proporción de matriz en la mezcla pared, Carga: concentración extracto vegetal.

En general, la mayoría de las pérdidas de las micropartículas del extracto vegetal producidas en esta experimentación ocurrieron debido a la adhesión hacia la pared del ciclón del secador por aspersión, a pesar de que se utilizó un alto flujo de aire, máxima presión y alta temperatura de entrada para crear mayor eficiencia de la transferencia de calor y masa posible para minimizar dichas pérdidas (Woo et al., 2007).

De hecho, uno de los desafíos del proceso de secado por atomización es la presencia de gotas que pueden hacer que los cúmulos de partículas alcancen la pared de la cámara antes de que se complete el proceso de secado (Mahdi et al., 2020; Navarro-Flores et al., 2020). En este estudio ocurrieron problemas de pegajosidad, específicamente con la mezcla MD-P, que fueron relacionados con alteraciones en la temperatura de transición vítrea de los agentes microencapsulantes (Di Battista et al., 2015), que cuando se exponen a altas temperaturas de secado, están sujetos a transformaciones, pasando de un estado vítreo a un estado gomoso (Fontes et al., 2014).

Otros autores también refieren la mezcla MD-GA en distintas proporciones para mejorar el rendimiento de microencapsulación mediante secado por aspersión de distintos extractos vegetales, alcanzando valores comprendidos entre 21 y 83 % (Jimenez-Gonzalez et al., 2018; Mahdi et al., 2020; Navarro-Flores et al., 2020; Nawas et al., 2019).

Por otro lado, la eficiencia de microencapsulación (EM) muestra la capacidad de la matriz portadora para encapsular los compuestos activos presentes en el extracto y está influenciada directamente por la composición del material de pared usado en el proceso (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Sun et al., 2020; Zorzenon et al., 2020).

Los valores de EM no mostraron una diferencia significativa entre ellos en relación a la capacidad de atrapamiento de los polifenoles del extracto dentro de la matriz encapsulante ( $p < 0.05$ ). Los resultados sugieren que el uso de un solo agente encapsulante no garantizó la



más alta eficiencia y que pudo ser mejorada con la utilización de mezclas de los materiales de pared. Tanto las mezclas MD-GA y MD-P arrojaron eficiencias de enmascaramiento buenas porque presentaron  $EM \geq 80 \%$  (Muhaimin et al., 2020). Los resultados obtenidos se encuentran entre el  $74.0 \pm 3.3$  y  $91.1 \pm 8.3 \%$  que estuvieron fuertemente influenciados por la adecuada relación núcleo: pared y proporción utilizada (Aliakbarian et al., 2015).

En particular, la relación 1:1.5 GA: MD aumentó la EM. Este efecto podría deberse a las propiedades emulsionantes de la GA y su capacidad para formar una matriz seca que evita que el material del núcleo entre en contacto con el medio ambiente (Navarro-Flores et al., 2020). De la misma manera, la composición química de MD y GA podría haber contribuido a su superioridad en la eficiencia de enmascaramiento. La GA es una molécula cargada que pueden interactuar con compuestos hidrosolubles y liposolubles al proporcionar un efecto termo protector durante su exposición a la alta temperatura del secado (Muhaimin et al., 2020; Tomsone et al., 2020). Este material a su vez, también contiene alrededor del 2 % de proteína que puede unirse covalentemente al grupo de carbohidratos en la MD, formando una barrera que protege el material núcleo (Muhaimin et al., 2020; Ramakrishnan et al., 2018; Xiao et al., 2021).

Adicionalmente, MD y GA tienen mejores propiedades formadoras de película en relación a la P (Dadi et al., 2019; Sansone et al., 2011). Varios estudios destacan EM mejoradas con la utilización de mezclas MD:GA similares a las de la presente investigación (Akhavan Mahdavi et al., 2016; Mahdi et al., 2020; Ramakrishnan et al., 2018; Rezende et al., 2018; Sawale et al., 2017; Silva Faria et al., 2020; Zorzenon et al., 2020).

### **3.4. Caracterización cualitativa de la eficiencia de microencapsulación**

#### **3.4.1. Morfología de las microcápsulas**

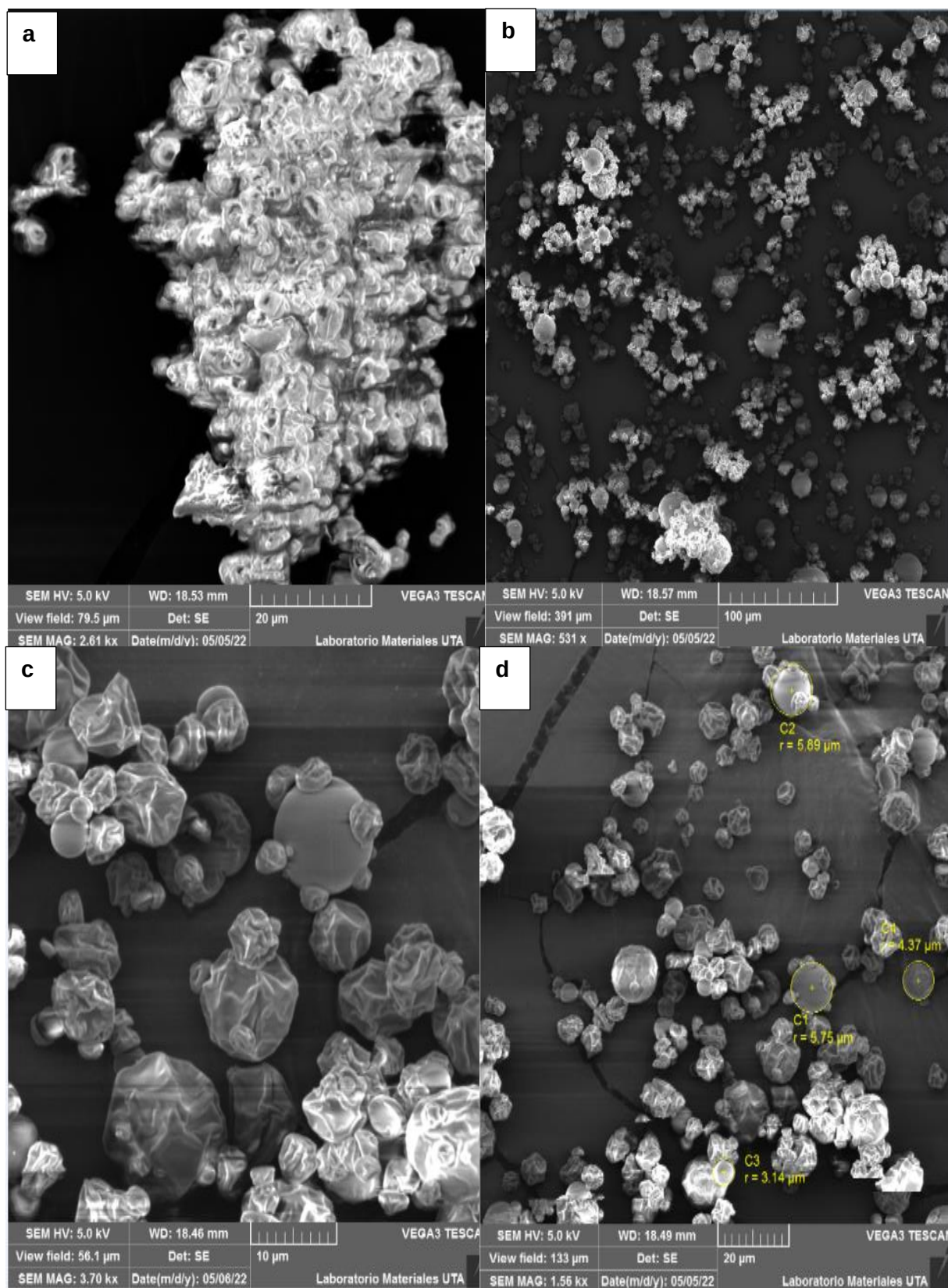
Con base en los resultados previos de rendimiento, eficiencia, calidad bioquímica y físico química de los microencapsulados del extracto vegetal, se eligieron a las micropartículas producidos con MD-GA como material pared y con carga del 20 % para su análisis morfológico.

Las micrografías, obtenidas en el microscopio electrónico de barrido (SEM), exhibieron una estructura irregular aglutinada y alargada probablemente por su alto contenido de moléculas de agua y perteneció al extracto seco sin la adición del agente microencapsulante (figura 1a). Mientras que, en la figura 1b, se muestra la morfología de la mezcla de material pared MD-GA sin el extracto; que presentó una forma irregular con mayor contracción y presencia de grietas en su superficie, pero con un bajo grado de aglomeración. En tanto, la figura 1c, señala

a las micropartículas enmascaradas con MD-GA al 20 % de carga que presentaron una notable forma irregular esférica con superficie rugosa y sin fisura en la superficie. Por lo tanto, la morfología que presentaron las micropartículas microencapsuladas con MD-GA al 20 % de carga permitieron la encapsulación y retención del extracto vegetal y evitó que el polifenol se oxidara y polimerizara (Da Silva et al., 2013; Navarro-Flores et al., 2020). Así también, la conformación surcada en la superficie de las micropartículas podría atribuirse a la alta tasa de evaporación del agua provocada por la temperatura de entrada utilizada en el proceso de secado (180 °C) (El-Messery et al., 2019; Tolun et al., 2016).

Evidentemente, el resultado cualitativo del proceso de secado por aspersión fue la obtención de microcápsulas, mayoritariamente, en forma de esferas huecas. Éstas fueron generadas por la contracción producida después del endurecimiento de la superficie externa de la microcápsula desarrollando una deformación o encogimiento que se visualizó como rugosidad en su superficie (Cano-Higueta et al., 2015; B. Yang et al., 2022). También, se pudo distinguir que dichas microesferas presentaron tamaño variado entre 2 a 6  $\mu\text{m}$  y que algunas ellas forman grupos entre partículas pequeñas y grandes, tal como se aprecia en la figura 1d. De esta manera, se constató que se encuentran dentro del rango típico de micropartículas de 0.2- 5000  $\mu\text{m}$  (Alves et al., 2017).

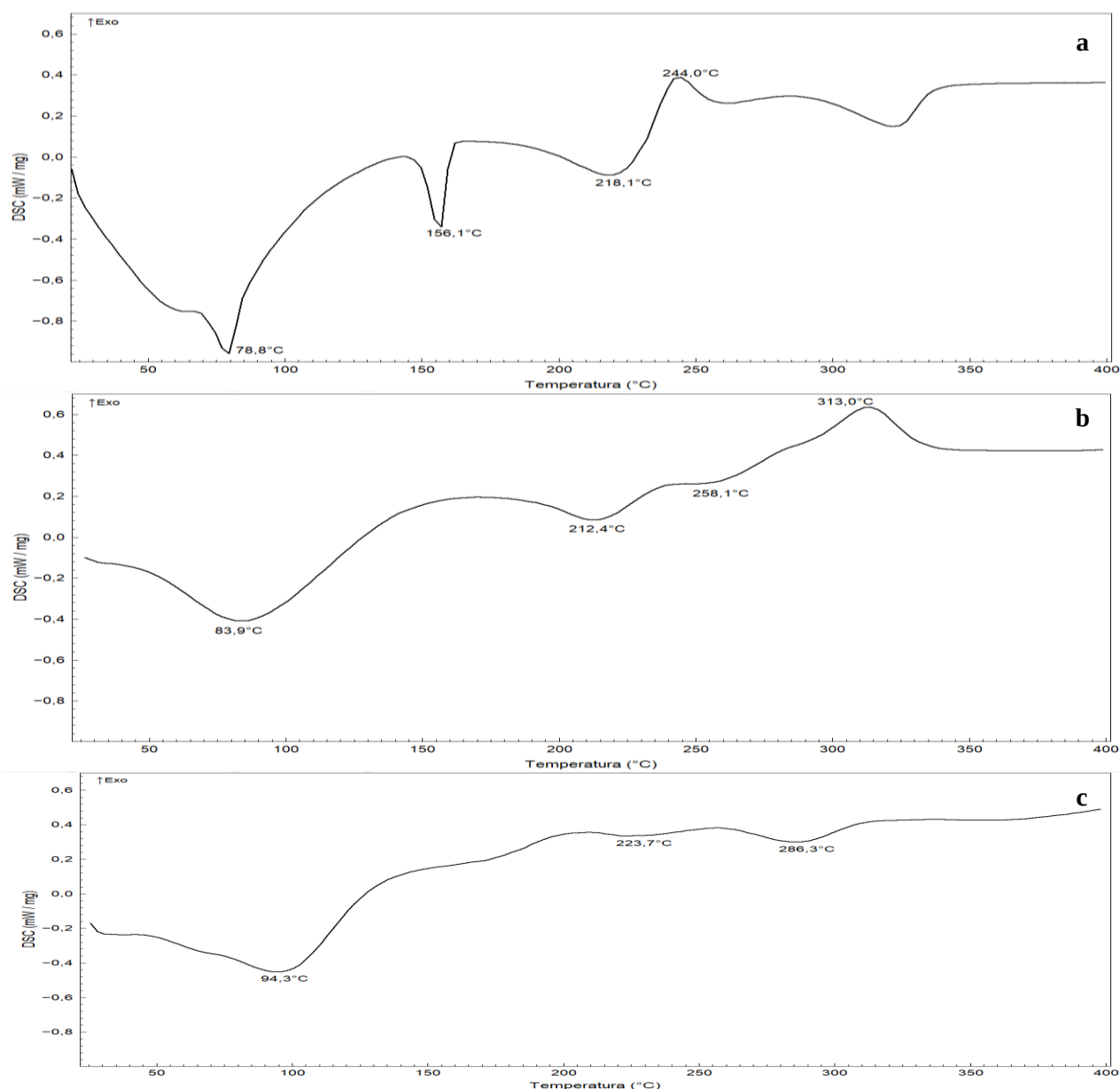
Los resultados conseguidos en la presente investigación son similares a los reportados en un estudio de la microencapsulación de *Renealmia alpinia* (Rottb.) utilizando una mezcla de MD-GA, en la que se obtuvo un tamaño de partícula que osciló con mayor frecuencia entre 1 a 5  $\mu\text{m}$ , con forma de esfera arrugadas, abolladas e irregulares (Jimenez-Gonzalez et al., 2018). Así mismo, varios autores reportan la obtención de microesferas secadas por atomización para diferentes extractos con similitudes morfológicas irregulares, principalmente de forma circular, superficie dentada con y sin grietas y con ausencia de roturas (Alves et al., 2017; Begum & Deka, 2017; Chen et al., 2021; A. Kalušević et al., 2017; Mazuco et al., 2018; Tolun et al., 2016).



**Figura 1.** Micrografías electrónicas de barrido del extracto microencapsulado de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* secado por atomización. (a) extracto seco, (b) mezcla MD-GA, (c) extracto microencapsulado, (d) diámetro micropartículas.

### 3.4.2. Análisis térmico por Calorimetría Diferencial de Barrido

Por medio de Calorimetría Diferencial de Barrido, se realizó el estudio de DSC del extracto vegetal y las micropartículas recubiertas con la mezcla de MD-GA con el 20 % de carga para conocer su comportamiento térmico, las posibles interacciones entre los componentes individuales y la estabilidad física de las microcápsulas.



**Figura 2.** Termogramas DSC del extracto microencapsulado de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* secado por atomización. (a) mezcla MD-GA, (b) extracto microencapsulado, (c) extracto seco.

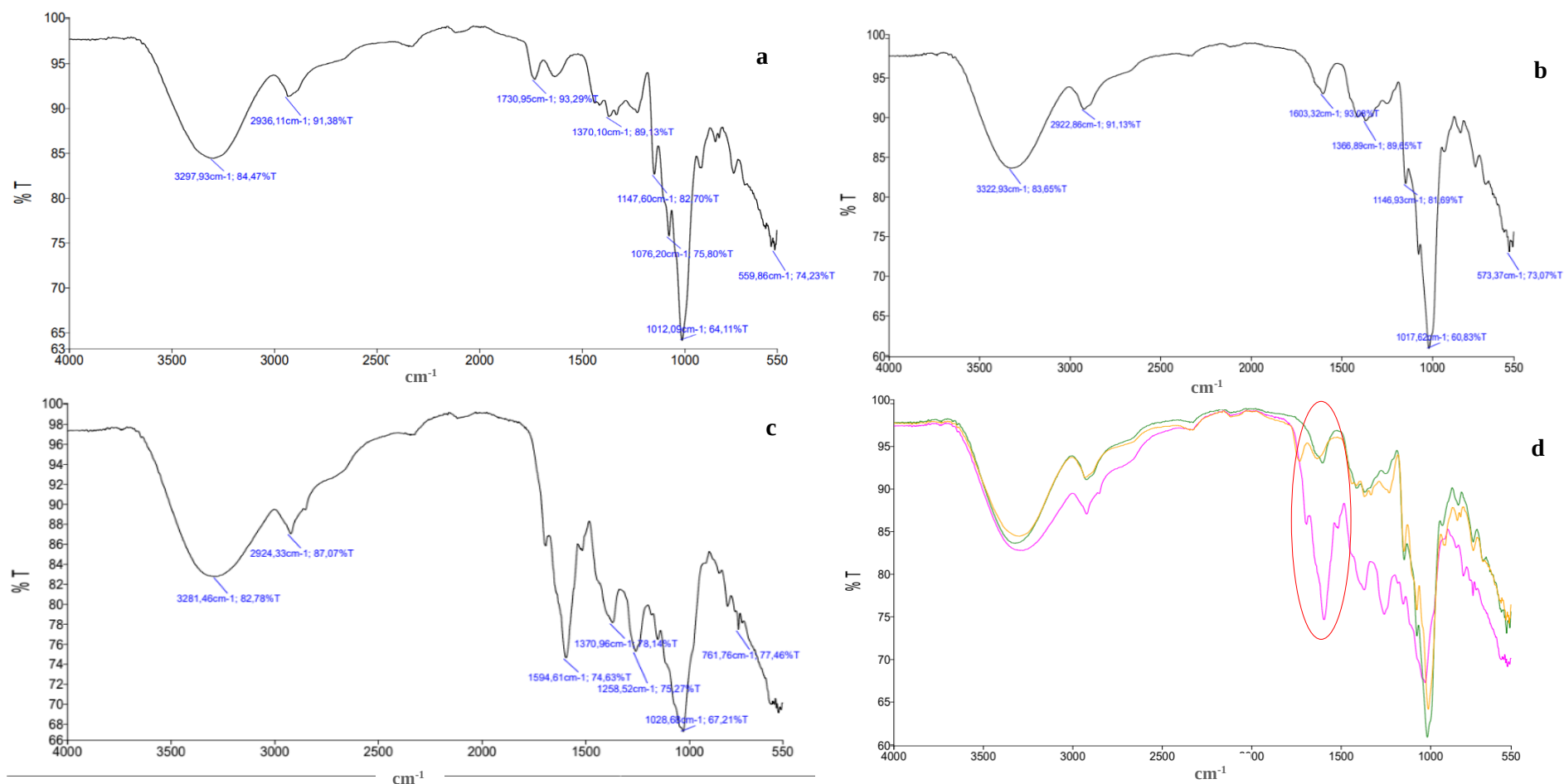
La figura 2 indica los perfiles térmicos de la mezcla encapsulante MD-GA, extracto vegetal seco sin microencapsular y extracto microencapsulado que exhibieron un pico endotérmico entre 78.8 a 94.3 °C y está relacionado con la pérdida de agua absorbida. Las diferencias entre las posiciones e intensidades de los picos endotérmicos se le atribuye al contenido de humedad que posee la muestra y su afinidad a las moléculas de agua (A. Kalušević et al., 2015; Mazuco et al., 2018). Adicionalmente, el termograma del extracto sin microencapsular (figura 2c) presenta dos eventos endotérmicos significativos con picos agudos a los 223.7 °C y 286.3 °C. Esto se generó probablemente debido a eventos de fusión de componentes activos, principalmente polifenoles y el inicio de degradación de la muestra, respectivamente (Ferreira-Santos et al., 2021; A. Kalušević et al., 2017; Nunes et al., 2015)

A su vez, el perfil térmico de la mezcla de pared (figura 2a) denota también sucesos endotérmicos relevantes a los 156.1 y 218.1 °C que señalan la fusión de GA y MD (Iturri et al., 2021; Kang et al., 2019). Además, se observó la temperatura de degradación térmica de la mezcla polimérica mediante la presencia de un pico exotérmico a los 244 °C.

Finalmente, el extracto microencapsulado (figura 2b) sigue una tendencia endotérmica a los 212.4 y 258.1 °C. Consecuentemente, dichos eventos térmicos de un material pared en el perfil térmico de las microcápsulas se consideran evidencia de una verdadera inclusión (Ferreira-Santos et al., 2021; Kang et al., 2019; Mazuco et al., 2018). Por consiguiente, los hallazgos obtenidos confirmaron que el extracto vegetal fue recubierto satisfactoriamente con los materiales microencapsulantes, formando complejos de inclusión y haciéndolas térmicamente más estables hasta los 313 °C, lo cual podría representar una mejor opción para diseñar formulaciones estables (Ahmadian et al., 2019; Iturri et al., 2021; Kang et al., 2019).

### **3.4.3. Análisis de las interacciones intermoleculares**

Se obtuvieron espectros FTIR de los materiales encapsulantes mezcla MD-GA, extracto al 20 % pulverizado y extracto microencapsulado con MD-GA con 20 % carga (fig. 3 a-d), para entender las características de las interacciones intermoleculares entre el núcleo y el material de pared. De tal manera, se evidenció la presencia de bandas de absorción máxima en 329.9, 3322.9, 3297.9  $\text{cm}^{-1}$  para los espectros sin microencapsular, microencapsulado y la mezcla enmascarante respectivamente (figura 3 a-c). Esto seguramente resultó ser característico de los grupos hidroxilo (-OH) y consignado a la presencia de moléculas de agua (A. M. Kalušević et al., 2017; Sablania et al., 2018; L. Zhang et al., 2018).



**Figura 3.** Espectros FTIR de la microencapsulación del extracto de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* secado por aspersión. (a) mezcla MD-GA, (b) extracto microencapsulado, (c) extracto seco, (d) espectros superpuestos; — mezcla MD-GA, — extracto microencapsulado, — extracto seco.



Por su parte, a los  $2924.3\text{ cm}^{-1}$  se exhibió una banda de estiramiento C-H y en regiones entre  $900$  y  $1600\text{ cm}^{-1}$  destacaron picos relacionados con ingredientes fenólicos (Gris et al., 2021). Por ejemplo, el exhibido a los  $1594.6\text{ cm}^{-1}$  en extracto vegetal pulverizado (figura 4c) perteneció predominantemente a vibraciones de enlace C=C de ingredientes fenólicos y aromáticos (Ballesteros et al., 2017; Pashazadeh et al., 2021). Esto puede ser atribuido específicamente a vibraciones C=O de estiramiento asimétricas y simétricas altamente asociadas con el ácido clorogénico y cafeína, que ciertos autores lo reportan en bandas entre el rango de  $1500$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$  (Khalifa et al., 2019; Pashazadeh et al., 2021; Sarabandi et al., 2019; Zohreh, 2020).

Por otra parte, el análisis FTIR para la mezcla microencapsulante (figura 3a) muestra bandas características de la GA y MD. El pico de absorción  $2935.1\text{ cm}^{-1}$  fue el modo de vibración de estiramiento de los enlaces C-H y  $1730.3\text{ cm}^{-1}$  (flexión N-H) atribuido a enlaces amida de naturaleza proteica de la goma arábiga (He et al., 2020; Sarabandi et al., 2019). En tanto, el observado a  $1370.1\text{ cm}^{-1}$  fue la vibración de flexión de -OH, mientras que los enlaces -CH<sub>2</sub>, -CH y =CH se asignaron a carbohidratos de maltodextrina (Sarabandi et al., 2019). Subsecuentemente, la banda de  $1147.6\text{ cm}^{-1}$  encajó en el modo de vibración de estiramiento de los enlaces C-O, mientras tanto, los asignados en  $1076.2$  y  $1012.1\text{ cm}^{-1}$  fueron el modo de vibración de flexión de C-O-C (Li et al., 2022; Pashazadeh et al., 2021). Posteriormente, el pico de  $559.9\text{ cm}^{-1}$  se propuso a las vibraciones esqueléticas del anillo piranoide que es característico de la MD (Lee & Chang, 2020; Li et al., 2022; Sarabandi et al., 2019).

Finalmente, el espectro FTIR del extracto microencapsulado (figura 3b) siguió la tendencia del espectro de la mezcla encapsulante GA-MD pero con ciertos cambios en la intensidad y algunos desplazamientos de bandas (Castro-López et al., 2020; Lozano-Vazquez et al., 2015). Principalmente, se pudo apreciar la ausencia del pico prominente característico del extracto pulverizado en  $1594.6\text{ cm}^{-1}$  y la aparición de una banda de poca intensidad a los  $1603.3\text{ cm}^{-1}$ . Esto ocurrió probablemente debido a la interacción entre los grupos polares de compuestos fenólicos y los grupos hidroxílicos/carboxílicos de la mezcla del material de pared utilizado (Ghandehari Yazdi et al., 2021; A. M. Kalušević et al., 2017; Kang et al., 2019). Por consiguiente, el extracto estuvo incorporado en la matriz polimérica, el cual formó un revestimiento y muestra una eficiente microencapsulación del extracto vegetal en su interior (Sarabandi et al., 2019).

### **3.5. Cuantificación de los polifenoles más abundantes del microencapsulado**

En la Tabla 4 se puede constatar la composición y concentraciones de los compuestos fenólicos presentes de las muestras del extracto *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao*, cargadas con el 20 y 40 % y microencapsuladas con MD-GA.

**Tabla 4.** Contenido de bioactivos principales del extracto microencapsulado *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao*

| Matriz            | Carga % | 5-CQA (mg/g)             | 4-CQA (mg/g)             | 3-CQA (mg/g)             | Ac. Cafeico (mg/g)      |
|-------------------|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| GA+MD<br>(1: 1.5) | 20      | 584.4±19.1 <sup>a</sup>  | 612.7±21.3 <sup>a</sup>  | 312.1±12.0 <sup>a</sup>  | 103.7±2.9 <sup>a</sup>  |
|                   | 40      | 2466.5±96.3 <sup>b</sup> | 2459.4±75.6 <sup>b</sup> | 1348.1±56.6 <sup>b</sup> | 312.5±12.7 <sup>b</sup> |

Los valores se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ( $p < 0.05$ ). Matriz: material pared utilizado, MD: maltodextrina, GA: goma arábica P: pectina, (1.5:1): proporción de matriz en la mezcla pared, Carga: concentración extracto vegetal, 5CQA: ácido neoclorogénico, 4-CQA: criptoclorogénico, 3-CQA: ácido clorogénico.

Se observó que el ácido cafeico y sus derivados (ácidos cafeoilquínico y dicafeoilquínico) fueron los compuestos principales en la composición del extracto acuoso microencapsulado, de los cuales resaltan los ácidos clorogénicos (5-CQA, 4-CQA, 3-CQA). Los valores obtenidos distinguen el efecto de la concentración del material de pared sobre la capacidad de enmascaramiento de los bioactivos. Es notable que las micropartículas estuvieron más cargadas si la proporción del material pared era menor, lo que ocasionó la diferencia significativa entre las muestras ( $p < 0.05$ ). Los máximos valores de concentración fueron para 4 y 5 CQA que alcanzaron valores de 584.4 a 2466.5 mg/g y 612.7 a 2459.4 mg/g, respectivamente.

La literatura establece que el ácido cafeico y, principalmente, los ácidos clorogénicos representan a los polifenoles más abundantes en distintos extractos vegetales como guayusa, café, mate, te negro (García-Ruiz et al., 2017; Gebara et al., 2017; Naveed et al., 2018; Rojas-González et al., 2022). Adicionalmente, el proceso de microencapsulación presenta resultados alentadores en la concentración especialmente de ácidos clorogénicos (Pilatti-Riccio et al., 2019; Ștefănescu et al., 2022). Por lo tanto, los resultados obtenidos son similares al ser comparados con un estudio en el que se microencapsuló un extracto de café verde Arábica y Robusta en una mezcla de maltodextrina y goma arábica 1:1 (p/p) como material de pared que alcanzó de 60 a 64 % de abundancia y concentraciones de ácido clorogénico total más alto de  $60.8 \pm 7.7$  mg/g (Silva Faria et al., 2020).

De igual forma, en un estudio previo en el que se utilizó el extracto vegetal optimizado microencapsulado con maltodextrina, se señala al ácido clorogénico como el mayor componente activo presente en el polvo vegetal seco con una cantidad de  $76.0 \pm 4.7$  mg/Kg (Quijano, 2019). En esta investigación, la menor cantidad de 5CQA presente en las micropartículas cargadas al 20 % supera en más de 4000 veces al valor reportado anteriormente. Esto probablemente surgió debido al mayor contenido de los principios activos en las micropartículas al estar cargados con cantidades mayores del extracto vegetal (20 y 40 %), ocasionado por el proceso de concentración del extracto que permitió obtener mayor

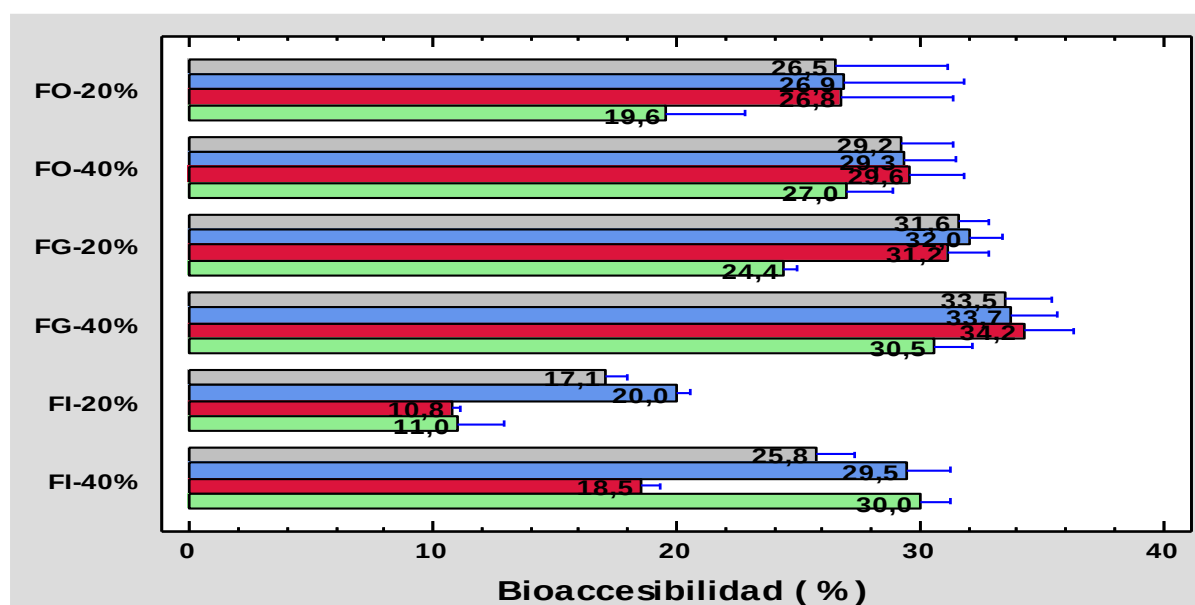


cantidad de sólidos disponibles para ser enmascarados y por ende aumentar las concentraciones de los compuestos bioactivos destacados (Pilatti-Riccio et al., 2019).

Por último, debido a que se ha reportado una concentración de ácido clorogénico de 225 mg/kg de peso como dosis de baja toxicidad, se podría acudir a cualquiera de las dos cargas microencapsuladas para preparar formulaciones con potencialidad nutracéutica (Gebara et al., 2017; Stalmach et al., 2014; Taroncher et al., 2021). Para ello, se debe tomar en cuenta que para su procesamiento a mayor escala se ven involucrados algunos factores, por lo tanto, el microencapsulado de menor carga podría presentar mayor ventaja debido al rendimiento eficiencia y calidad de sus micropartículas, resultando en el mejor aprovechamiento de tiempo y materia prima para su producción (Gawalek, 2021; Lourenço et al., 2020).

### 3.6. Bioaccesibilidad de los microencapsulados mediante digestión *in vitro*

La estimación de la bioaccesibilidad es sumamente importante en la incorporación de compuestos fenólicos de sustancias microencapsuladas (Grgić et al., 2020; Vilas-Boas et al., 2020). Para ejercer su bioactividad, los bioactivos deben ser liberados de la matriz alimentaria y modificada en el sistema gastrointestinal (Ferreira-Santos et al., 2021; Rojo-Poveda et al., 2020). Por consiguiente, las micropartículas que presentaron el más alto rendimiento y eficiencia de microencapsulación MD-GA 20 y 40% fueron sometidas al proceso *in vitro* de simulación gástrica.



**Figura 4.** Bioaccesibilidad (%) de bioactivos específicos del extracto de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* microencapsulado con MD-GA al 20 y 40% de carga después de la digestión gástrica simulada. Los valores se presentan como media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ).  $p<0.05$ . ■ 5-CQA, ■ 4-CQA, ■ 3-CQA, ■ Ácido cafeico. FO: fase oral, FG: fase gástrica, FI: fase intestinal.

Se determinó la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos más abundantes presentes en el extracto vegetal después de cada etapa de la simulación gástrica, tal como se aprecia en la figura 4. El aumento de carga marcó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), específicamente para la bioaccesibilidad del ácido cafeico en la FO y también para 3-CQA, 4-CQA y ácido cafeico en la FI. Las diferencias de bioaccesibilidad entre cada carga de los microencapsulados podrían haber ocurrido debido a que la envoltura formada por la mezcla MD-GA usada como material pared en el proceso de secado por aspersión es mucho más fina que las cargadas al 20 %, permitiendo contener mayor cantidad de compuestos bioactivos (Jyothi et al., 2010).

Además, fue notable el impacto de la digestión simulada en la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos característicos del extracto vegetal; ácidos clorogénicos y ácido cafeico presentes en las muestras. La bioaccesibilidad a través de la digestión *in vitro* disminuye o incrementa de acuerdo a la etapa digestiva. Por ejemplo, en la fase gástrica se liberó el mayor porcentaje de principios bioactivos para todas las muestras. Esto sugirió que la presencia de la enzima pepsina, la acidez del medio y el tiempo de contacto podrían haber provocado la ruptura de la pared de la microcápsula y la membrana celular vegetal del extracto (Ahmadian et al., 2019; Brodkorb et al., 2019; Sousa et al., 2021). Estudios previos, destacan resultados similares que señalan una máxima liberación de distintos compuestos fenólicos durante la fase gástrica (Ferreira-Santos et al., 2021; Ștefănescu et al., 2022).

Por otro lado, se notó un decremento en la bioaccesibilidad durante la fase intestinal. Los compuestos fenólicos son muy sensibles a las condiciones alcalinas encontradas en el intestino delgado y la secreción de sales biliares puede causar alteraciones en las estructuras químicas que resultan en nuevos compuestos, con diferente biodisponibilidad y actividades biológicas (Ferreira-Santos et al., 2021; Sousa et al., 2021).

En conclusión, se denotó la importancia de que las microcápsulas liberen el material encapsulado en el sistema intestinal a través de la acción de las enzimas y las condiciones del intestino delgado. Por lo tanto, los compuestos fenólicos pueden ser absorbidos a una concentración mínima para ejercer sus efectos biológicos beneficiosos (Ștefănescu et al., 2022). Así también, la literatura señala que los ácidos clorogénicos y ácido cafeico son principalmente bioaccesibles en la fase estomacal debido a su absorción a través de la mucosa gástrica por lo que la reducción de los niveles de estos compuestos en el intestino delgado estarían asociados con su degradación en el estómago; por lo que los resultados obtenidos serían favorables (Sousa et al., 2021; Ștefănescu et al., 2022).

#### 4. Conclusiones

Maltodextrina y mezclas binarias de maltodextrina con goma arábica y pectina fueron estudiadas como materiales de pared para microencapsular un extracto acuoso optimizado de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* secado mediante aspersión. Las micropartículas obtenidas se caracterizaron en términos de sus propiedades físico-químicas, carga de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos demostraron que las micropartículas preparadas con los distintos materiales de pared alcanzaron una alta eficiencia, que pudo ser mejorada con la utilización de mezcla MD-GA. Se notó que el CPT, CFT y actividad antioxidante más altos fueron producidos con los microencapsulados que contenían MD sola y MD-GA. Entre tanto, la caracterización físico química de las microcápsulas señaló micropartículas de buena calidad en relación a la humedad con flujos entre moderados a buenos, con cohesividad intermedia, alta solubilidad y humectabilidad variada que dependió de la matriz microencapsulante utilizada.

La aspiración a nivel industrial del procesamiento de microencapsulación es asegurar la capacidad máxima de producción; por lo tanto las micropartículas, especialmente las producidas con MD-GA al 20 % de carga, sugieren la formulación más adecuada por presentar rendimiento  $\geq 50$  %; CPT, CFT y actividad antioxidante considerables en relación al resto de microcápsulas procesadas, así como también por su buena calidad con respecto al contenido de humedad, IC, RH, humectabilidad y solubilidad de las micropartículas generadas.

Para la caracterización cualitativa de la eficiencia de microencapsulación de las micropartículas producidas con MD-GA al 20 % de carga, se acudieron a las micrografías SEM que presentaron micropartículas mayoritariamente irregulares, esféricas, rugosas sin fisura y de tamaño variado entre 2 a 6  $\mu\text{m}$ . El análisis FTIR y DSC indicaron un proceso de microencapsulación exitoso debido a la formación de complejos de inclusión extracto-material pared y convirtiéndolas térmicamente en más estables.

Por otra parte, la microencapsulación del extracto optimizado de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao* mostró altas concentraciones de ácidos clorogénicos y ácido cafeico dependientes de la proporción material pared/ extracto vegetal que, en trabajos anteriores, ha mostrado actividad farmacológica

Finalmente, la digestión gastrointestinal simulada fue necesaria para la evaluación de la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos individuales predominantes en los microencapsulados (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA y ácido cafeico). Las acciones físicas, químicas

y enzimáticas contribuyeron a una menor bioaccesibilidad de los bioactivos. Particularmente, las micropartículas fueron más bioaccesibles en la fase oral y mucosa gástrica.

En conclusión, los datos destacaron que el extracto acuoso de *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa* y residuos de *Theobroma cacao* podría considerarse como una fuente innovadora de polifenoles dietéticos especialmente ácidos clorogénicos y ácido cafeico. Así también el extracto encapsulado en microcápsulas de MD-GA podría ser una estrategia efectiva para su bioaccesibilidad oral y gástrica. Por lo tanto, estos extractos microencapsulados actuarían como un muy buen ingrediente para el desarrollo de diferentes tipos de alimentos o bebidas con mayor valor funcional y nutracéutica basados en las propiedades del ingrediente encapsulado y las necesidades del consumidor. Sin embargo, el tema merece un análisis detallado, que debería informarse en un estudio futuro de la efectividad de la fórmula propuesta a mayor escala, dando resultados satisfactorios.

### **Agradecimientos**

La investigación se realizó en el marco de un programa conjunto de postgrados VLIR NETWORK Ecuador en colaboración con la Universidad Técnica de Ambato.

## Referencias

- Abdullahi R, A., & Mainul, H. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19)
- Ahmadian, Z., Niazmand, R., & Pourfarzad, A. (2019). Microencapsulation of Saffron Petal Phenolic Extract: Their Characterization, In Vitro Gastrointestinal Digestion, and Storage Stability. *Journal of Food Science*, 84(10), 2745–2757. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14807>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Aliakbarian, B., Paini, M., Casazza, A. A., & Perego, P. (2015). Effect of encapsulating agent on physical-chemical characteristics of olive pomace polyphenols-rich extracts. *Chemical Engineering Transactions*, 43, 97–102. <https://doi.org/10.3303/CET1543017>
- Alves, A. I., Rodrigues, M. Z., Ribeiro Pinto, M. R. M., Lago Vanzela, E. S., Stringheta, P. C., Perrone, Í. T., & Ramos, A. M. (2017). Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. *International Journal of Food Properties*, 20(June), 1298–1305. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1343344>
- AOAC, A. of O. A. (1990). *Official Methods of Analysis* (K. Helrich (ed.); Vol. 1, Issue Volume 1). <https://doi.org/10.7312/seir17116-004>
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Arteaga-Crespo, Y., Radice, M., Bravo-Sanchez, L. R., García-Quintana, Y., & Scalvenzi, L. (2020). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from Ilex guayusa Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, 6(1), 0–7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03043>
- Bahrim, G. E., Gabriela, R., Oancea, A., & St, N. (2020). *Co-Microencapsulation of Flavonoids from Yellow Onion Skins and Lactic Acid Bacteria Lead to Multifunctional Ingredient for Nutraceutical and Pharmaceuticals Applications*. 12, 1053.
- Ballesteros, L. F., Ramirez, M. J., Orrego, C. E., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2017). Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, 237, 623–631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>
- Baranauskaite, J., Ivanauskas, L., Masteikova, R., Kopustinskiene, D., Baranauskas, A., & Bernatoniene, J. (2017). Formulation and characterization of Turkish oregano microcapsules prepared by spray-drying technology. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22(6), 792–803. <https://doi.org/10.1080/10837450.2016.1189934>
- Basyigit, B., & Hayoglu, I. (2019). Liquorice (*glycyrrhiza glabra* L.) root sherbet (extract): Microencapsulation and storage stability. *Acta Alimentaria*, 48(1), 76–85. <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.1.9>
- Begum, Y. A., & Deka, S. C. (2017). Stability of spray-dried microencapsulated anthocyanins extracted from culinary banana bract. *International Journal of Food Properties*, 20(12), 3135–3148. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1277739>
- Ben-Shabat, S., Yarmolinsky, L., Porat, D., & Dahan, A. (2020). Antiviral effect of phytochemicals from medicinal plants: Applications and drug delivery strategies. *Drug Delivery and Translational Research*, 10(2), 354–367. <https://doi.org/10.1007/s13346-019-00691-6>
- Bernardes, A. L., Moreira, J. A., Tostes, M. das G. V., Costa, N. M. B., Silva, P. I., & Costa, A. G. V. (2019). In vitro bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system. *Lwt*, 102(2019),

- 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.009>
- Boyano-Orozco, L., Gallardo-Velázquez, T., Meza-Márquez, O. G., & Osorio-Revilla, G. (2020). Microencapsulation of rambutan peel extract by spray drying. *Foods*, 9(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9070899>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Calero, J., Sánchez, Y. F., Tórrez, R., Hernann, E., & López, K. (2008). Elaboración y Caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de Diclofenac obtenidas por Gelificación Iónica. *UNAN-León, Editorial Universitaria.*, 27–30.
- Cano-Higueta, D. M., Vélez, H. A. V., & Telis, V. R. N. (2015). Microencapsulation of turmeric oleoresin in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and modified starch | Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma em misturas binárias e ternárias de goma arábica, maltodextrina e amido modificado. *Ciencia e Agrotecnologia*, 39(2), 173–182.
- Castro-López, C., Gonçalves, C., Ventura-Sobrevilla, J. M., Pastrana, L. M., Aguilar-González, C. N., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2020). Moringa oleifera-storage stability, In vitro-simulated digestion and cytotoxicity assessment of microencapsulated extract. *Processes*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/PR8070770>
- Cegledi, E., Zori, Z., Garofuli, I. E., Radman, S., & Pal, I. (2021). *Bioactive Compounds in Wild Nettle ( Urtica dioica L .) Leaves.*
- Chen, X., Ting, J. L. H., Peng, Y., Tangjaidee, P., Zhu, Y., Li, Q., Shan, Y., & Quek, S. Y. (2021). Comparing three types of mandarin powders prepared via microfluidic-jet spray drying: Physical properties, phenolic retention and volatile profiling. *Foods*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/foods10010123>
- Colín-Cruz, M. A., Pimentel-González, D. J., Carrillo-Navas, H., Alvarez-Ramírez, J., & Guadarrama-Lezama, A. Y. (2019). Co-encapsulation of bioactive compounds from blackberry juice and probiotic bacteria in biopolymeric matrices. *Lwt*, 110(November 2018), 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.064>
- Corrêa-Filho, L. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (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>
- Costamagna, M., Gómez-Mascaraque, L. G., Catiana, I., Rosa, M., Pérez, J., López-rubio, A., & Inés, M. (2017). Microencapsulated chañar phenolics: A potential ingredient for functional foods development. *Journal of Functional Foods*, 37, 523–530. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.018>
- Crespo, Y. A., Bravo Sánchez, L. R., Quintana, Y. G., Cabrera, A. S. T., Bermúdez del Sol, A., & Mayancha, D. M. G. (2019). Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon*, 5(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942>
- Cuq, B., Rondet, E., & Abecassis, J. (2011). Food powders engineering, between knowhow and science: Constraints, stakes and opportunities. *Powder Technology*, 208(2), 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2010.08.012>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03908-1>
- Da Silva, F. C., Da Fonseca, C. R., De Alencar, S. M., Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioprocess Technology*, 91(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.006>
- Dadi, D. W., Emire, S. A., Hagos, A. D., & Eun, J. B. (2019). Effects of spray drying process



- parameters on the physical properties and digestibility of the microencapsulated product from *Moringa stenopetala* leaves extract. *Cogent Food and Agriculture*, 5(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1690316>
- de Moura, S. C. S. R., Berling, C. L., Germer, S. P. M., Alvim, I. D., & Hubinger, M. D. (2018). Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. *Food Chemistry*, 241(May 2017), 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.095>
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430–1435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>
- Di Battista, C. A., Constenla, D., Ramírez-Rigo, M. V., & Piña, J. (2015). The use of Arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*, 286, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.08.016>
- Du, J., Ge, Z. Z., Xu, Z., Zou, B., Zhang, Y., & Li, C. M. (2014). Comparison of the Efficiency of Five Different Drying Carriers on the Spray Drying of Persimmon Pulp Powders. *Drying Technology*, 32(10), 1157–1166. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.886259>
- El-Messery, T. M., El-Said, M. M., Demircan, E., & Özçelik, B. (2019). Microencapsulation of natural polyphenolic compounds extracted from apple peel and its application in yoghurt. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18(1), 25–34. <https://doi.org/10.17306/j.afs.0597>
- Fenoglio, D., Soto Madrid, D., Alarcón Moyano, J., Ferrario, M., Guerrero, S., & Matiacevich, S. (2021). Active food additive based on encapsulated yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract: effect of drying methods on the oxidative stability of a real food matrix (mayonnaise). *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1574–1584. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04669-y>
- Ferreira-Santos, P., Ibarz, R., Fernandes, J. M., Pinheiro, A. C., Botelho, C., Rocha, C. M. R., Teixeira, J. A., & Martín-Belloso, O. (2021). Encapsulated pine bark polyphenolic extract during gastrointestinal digestion: Bioaccessibility, bioactivity and oxidative stress prevention. *Foods*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/foods10020328>
- Fontes, C. P. M. L., Silva, J. L. A., Sampaio-Neta, N. A., da Costa, J. M. C., & Rodrigues, S. (2014). Dehydration of Prebiotic Fruit Drinks by Spray Drying: Operating Conditions and Powder Characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10), 2942–2950. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1343-5>
- García-Ruiz, A., Baenas, N., Benitez-González, A., Stinco, C., Meléndez, A., Moreno, D., & Ruales, J. (2017). Guayusa (*Ilex guayusa* L.) new tea: phenolic and carotenoid composition and antioxidant capacity Almudena. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(3), 303–325. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8255>
- Gawalek, J. (2021). Effect of spray dryer scale size on the properties of dried beetroot juice. *Molecules*, 26(21). <https://doi.org/10.3390/molecules26216700>
- Gebara, K. S., Gasparotto-Junior, A., Santiago, P. G., Cardoso, C. A. L., De Souza, L. M., Morand, C., Costa, T. A., & Cardozo-Junior, E. L. (2017). Daily Intake of Chlorogenic Acids from Consumption of Maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) Traditional Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10093–10100. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04093>
- Ghandehari Yazdi, A. P., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Gavligi, H. A. (2021). Encapsulation of pistachio green hull phenolic compounds by spray drying. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(1), 51–64.
- Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., & Bucić-Kojić, A. (2020). Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. *Antioxidants*, 9(10), 1–36. <https://doi.org/10.3390/antiox9100923>
- Gris, C. C. T., Frota, E. G., Guarienti, C., Vargas, B. K., Gutkoski, J. P., Biduski, B., & Bertolin, T. E. (2021). In vitro digestibility and stability of encapsulated yerba mate extract and its impact on yogurt properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(2), 2000–2009. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00788-4>

- Gugliucci, A., Bastos, D. H. M., Schulze, J., & Souza, M. F. F. (2009). Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. *Fitoterapia*, 80(6), 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.04.007>
- He, R., Ye, J., Wang, L., & Sun, P. (2020). Preparation and evaluation of microcapsules encapsulating royal jelly sieve residue: Flavor and release profile. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(22), 1–13. <https://doi.org/10.3390/app10228126>
- Horuz, E., Altan, A., & Maskan, M. (2012). Spray Drying and Process Optimization of Unclearified Pomegranate (*Punica granatum*) Juice. *Drying Technology*, 30(7), 787–798. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.663434>
- Hussain, S. A., Hameed, A., Nazir, Y., Naz, T., Wu, Y., Suleria, H. A. R., & Song, Y. (2018). Microencapsulation and the characterization of polyherbal formulation (PHF) rich in natural polyphenolic compounds. *Nutrients*, 10(7), 1–25. <https://doi.org/10.3390/nu10070843>
- Igual, M. O., Martucci, M. E. P., Da Costa, F. B., & Gobbo-Neto, L. (2013). Sesquiterpene lactones, chlorogenic acids and flavonoids from leaves of *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, 94–97. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.08.018>
- Iturri, M. S., Calado, C. M. B., & Prentice, C. (2021). Microparticles of *Eugenia stipitata* pulp obtained by spray-drying guided by DSC: An analysis of bioactivity and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 334, 127557. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127557>
- Jahan, I., & Onay, A. (2020). Potentials of plant-based substance to inhabit and probable cure for the covid-19. *Turkish Journal of Biology*, 44(Special issue 1), 228–241. <https://doi.org/10.3906/biy-2005-114>
- Jimenez-Gonzalez, O., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Ochoa-Velasco, C. E., Luna Vital, D., & Luna-Guevara, M. L. (2018). A potential natural coloring agent with antioxidant properties: Microencapsulates of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit pericarp. *NFS Journal*, 13, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2018.08.001>
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Kalušević, A., Lević, S., Čalića, B., Pantić, M., Belović, M., Pavlović, V., Bugarski, B., Milić, J., Žilić, S., & Nedović, V. (2017). Microencapsulation of anthocyanin-rich black soybean coat extract by spray drying using maltodextrin, gum Arabic and skimmed milk powder. *Journal of Microencapsulation*, 34(5), 475–487. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1354939>
- Kalušević, A. M., Lević, S. M., Čalića, B. R., Milić, J. R., Pavlović, V. B., Bugarski, B. M., & Nedović, V. A. (2017). Effects of different carrier materials on physicochemical properties of microencapsulated grape skin extract. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3411–3420. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2790-6>
- Kalušević, A., Veljović, M., Salević, A., Lević, S., Stamenković-Đoković, M., Bugarski, B., & Nedović, V. (2015). Microencapsulation of herbs extract by spray drying. *Works of the Faculty of Agriculture and Food Science*, 61(66), 1–5.
- Kang, Y. R., Lee, Y. K., Kim, Y. J., & Chang, Y. H. (2019). Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272(March 2018), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.063>
- Khalifa, I., Li, M., Mamet, T., & Li, C. (2019). Maltodextrin or gum Arabic with whey proteins as wall-material blends increased the stability and physiochemical characteristics of mulberry microparticles. *Food Bioscience*, 31(1), 100445. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100445>
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2012). Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chemical Engineering Research and Design*, 90(5),



- 622–632. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.09.003>
- Lee, Y. K., & Chang, Y. H. (2020). Microencapsulation of a maca leaf polyphenol extract in mixture of maltodextrin and neutral polysaccharides extracted from maca roots. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 546–558. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.091>
- Li, X., Zhang, Z. H., Qiao, J., Qu, W., Wang, M. S., Gao, X., Zhang, C., Brennan, C. S., & Qi, X. (2022). Improvement of betalains stability extracted from red dragon fruit peel by ultrasound-assisted microencapsulation with maltodextrin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 82, 105897. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105897>
- Loaiza-Campiño, I., Villegas-Hincapié, A., Arana, V., & Posada, H. (2020). Characterization of chlorogenic acids (CGA) and nine isomers in an F2 population derived from *Coffea arabica* L. *Agronomía Colombiana*, 38(1), 111–120. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v38n1.74338>
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2020). Microencapsulation of Pineapple Peel Extract by Spray Drying Using Maltodextrin, Inulin, and Arabic Gum as Wall Matrices. *Foods*, 9, 718.
- Lozano-Vazquez, G., Lobato-Calleros, C., Escalona-Buendia, H., Chavez, G., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2015). Effect of the weight ratio of alginate-modified tapioca starch on the physicochemical properties and release kinetics of chlorogenic acid containing beads. *Food Hydrocolloids*, 48, 301–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.032>
- Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I., & Wang, H. (2020). Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 1125–1134. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.201>
- Manzano, P., Chóez-Guaranda, I., Viteri, R., Barragán-Lucas, A., Quijano-Avilés, M., Sánchez, C., Orellana-Manzano, A., & Cardador-Martínez, A. (2021). Anti-inflammatory potential of processing *Vernonanthura patens* (Kunth) H. Rob. leaves aqueous extract. *Natural Product Research*, 0(0), 1–5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1984464>
- Manzano, P., Hernández, J., Quijano-Avilés, M., Barragán, A., Chóez-Guaranda, I., Viteri, R., & Valle, O. (2017). Polyphenols extracted from *Theobroma cacao* waste and its utility as antioxidant. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(1), 45–50. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-388>
- Manzano Santana, P., Quijano-Avilés, M., Chóez-Guaranda, I., BarragánLucas, A., Viteri Espinoza, R., Martínez, D., Camacho, C., & Martínez, M. M. (2018). Effect of drying methods on physical and chemical properties of *ilex guayusa* leaves. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(3), 8617–8622. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v71n3.71667>
- Maria, R., Rita, P., Sansone, F., Mencherini, T., Picerno, P., Esposito, T., Gaudio, P. Del, Russo, P., Pepe, G., Lauro, M. R., & Aquino, R. P. (2014). *Microencapsulation by spray drying of *Lannea microcarpa* extract: Technological characteristics and antioxidant activity*.
- Matthäus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3444–3452. <https://doi.org/10.1021/jf011440s>
- Mazuco, R. A., Cardoso, P. M. M., Bindaco, É. S., Scherer, R., Castilho, R. O., Faraco, A. A. G., Ruas, F. G., Oliveira, J. P., Guimarães, M. C. C., de Andrade, T. U., Lenz, D., Braga, F. C., & Endringer, D. C. (2018). Maltodextrin and Gum Arabic-Based Microencapsulation Methods for Anthocyanin Preservation in Juçara Palm (*Euterpe edulis* Martius) Fruit Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(3), 209–215. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0676-z>
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., & Hu, Y. (2013). Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. *Evidence-Based Complementary and*

- Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/801457>
- Min, B., Gu, L., McClung, A. M., Bergman, C. J., & Chen, M. H. (2012). Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. *Food Chemistry*, 133(3), 715–722. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.079>
- Mohd Yusop, F. H., Manaf, S. F. A., & Hamzah, F. (2017). Preservation of Bioactive Compound via Microencapsulation. *Chemical Engineering Research Bulletin*, 19, 50. <https://doi.org/10.3329/cerb.v19i0.33796>
- Muhaimin, M., Yusnaidar, Y., Syahri, W., Latief, M., & Chaerunisaa, A. Y. (2020). Microencapsulation of *Macaranga gigantea* Leaf Extracts: Production and Microencapsulation of *Macaranga gigantea* Leaf Extracts: Production and Characterization. *Pharmacognosy Journal*, 12(4). <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.104>
- Murugesan, R., & Orsat, V. (2012). Spray Drying for the Production of Nutraceutical Ingredients-A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0638-z>
- Navarro-Flores, M. J., Ventura-Canseco, L. M. C., Meza-Gordillo, R., Ayora-Talavera, T. del R., & Abud-Archila, M. (2020). Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 4111–4122. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04447-w>
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97(August 2017), 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>
- Nawas, T., Azam, M. S., Ramadhan, A. H., Xu, Y., & Xia, W. (2019). Impact of Wall Material on the Physiochemical Properties and Oxidative Stability of Microencapsulated Spray Dried Silver Carp Oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(1), 49–63. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1560380>
- Nunes, G. L., Boaventura, B. C. B., Pinto, S. S., Verruck, S., Murakami, F. S., Prudêncio, E. S., & De Mello Castanho Amboni, R. D. (2015). Microencapsulation of freeze concentrated *Ilex paraguariensis* extract by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 151, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.031>
- Oracz, J., & Zyzelewicz, D. (2019). In vitro antioxidant activity and ftir characterization of high-molecular weight melanoidin fractions from different types of cocoa beans. *Antioxidants*, 8(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/antiox8110560>
- Paladines-Santacruz, G., Orellana-Manzano, A., Sarmiento, G., Piloza, G., Iñiga, E., Zaruma-Torres, F., Ortiz-Ulloa, J., Quijano-Avilés, M., Di Grumo, D., Orellana-Manzano, S., Villacrés, M. del C., Manzano, P., & Vanden Berghe, W. (2021). Acute oral toxicity of a novel functional drink based on *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens*, and cocoa husk. *Toxicology Reports*, 8, 747–752. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.026>
- Pashazadeh, H., Zannou, O., Ghellam, M., Koca, I., Galanakis, C. M., & Aldawoud, T. M. S. (2021). Optimization and Encapsulation of Phenolic Compounds Extracted from Maize Waste by Freeze-Drying, Spray-Drying, and Microwave-Drying Using Maltodextrin. *Foods*, 10(6), 1396. <https://doi.org/10.3390/foods10061396>
- Pattnaik, M., Pandey, P., Martin, G. J. O., Mishra, H. N., & Ashokkumar, M. (2021). Innovative technologies for extraction and microencapsulation of bioactives from plant-based food waste and their applications in functional food development. *Foods*, 10(2), 1–30. <https://doi.org/10.3390/foods10020279>
- Piccolella, S., Crescente, G., Candela, L., & Pacifico, S. (2019). Nutraceutical polyphenols: New analytical challenges and opportunities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 175, 112774. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.07.022>
- Pilatti-Riccio, D., dos Santos, D. F., Meinhart, A. D., Knapp, M. A., Hackbart, H. C. dos S., & Pinto, V. Z. (2019). Impact of the use of saccharides in the encapsulation of *Ilex*

- paraguariensis extract. *Food Research International*, 125, 108600. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108600>
- Pudziuvelyte, L., Marksa, M., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Kopustinskiene, D. M., & Bernatoniene, J. (2019). Microencapsulation of Elsholtzia ciliata Herb Ethanolic Extract by Spray-Drying: Impact of resistant-maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. *Molecules*, 24(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules24081461>
- Quijano, M. (2019). *Desarrollo de un microencapsulado nutracéutico con actividad antioxidante a base de extractos de Ilex guayusa, Vernonanthura patens y cascarilla de cacao* [ESPOL]. [https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52964/1/T-111220 Quijano Aviles.pdf](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/52964/1/T-111220%20Quijano%20Aviles.pdf)
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N. M., Yusof, Y. A., & Muhammad, K. (2018). Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technology*, 328, 406–414. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.12.018>
- Ramli, N. N. S., Alkhaldy, A. A., & Mhd Jalil, A. M. (2021). Effects of caffeinated and decaffeinated coffee consumption on metabolic syndrome parameters: A systematic review and meta-analysis of data from randomised controlled trials. *Medicina (Lithuania)*, 57(9). <https://doi.org/10.3390/medicina57090957>
- Rezende, Y. R. R. S., Nogueira, J. P., & Narain, N. (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), 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Rojas-González, A., Figueroa-Hernández, C. Y., González-Rios, O., Suárez-Quiroz, M. L., González-Amaro, R. M., Hernández-Estrada, Z. J., & Rayas-Duarte, P. (2022). Coffee Chlorogenic Acids Incorporation for Bioactivity Enhancement of Foods: A Review. *Molecules*, 27(11), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules27113400>
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Khatibi, C. El, Youl, E. N. H., Bertolino, M., Delporte, C., Pochet, S., & Stévigny, C. (2020). Polyphenolic and methylxanthine bioaccessibility of cocoa bean shell functional biscuits: Metabolomics approach and intestinal permeability through CaCo-2 cell models. *Antioxidants*, 9(11), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antiox9111164>
- Sablania, V., Bosco, S. J. D., Rohilla, S., & Shah, M. A. (2018). Microencapsulation of Murraya koenigii L. leaf extract using spray drying. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 892–901. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9704-1>
- Sansone, F., Mencherini, T., Picerno, P., D'Amore, M., Aquino, R. P., & Lauro, M. R. (2011). Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 468–476. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.004>
- Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2017). Chlorogenic Acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*, 22(3), 7–9. <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>
- Saquicela Carpio, J. E. (2018). *Optimización experimental de un método cromatográfico HPLC-DAD para el análisis de polifenoles en frutas* [Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/30853>
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., & Mohammadi, A. (2019). Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133>
- Sawale, P. D., Patil, G. R., Hussain, S. A., Singh, A. K., & Singh, R. R. B. (2017). Release characteristics of polyphenols from microencapsulated Terminalia arjuna extract: Effects of simulated gastric fluid. *International Journal of Food Properties*, 20(12), 3170–3178. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1280677>

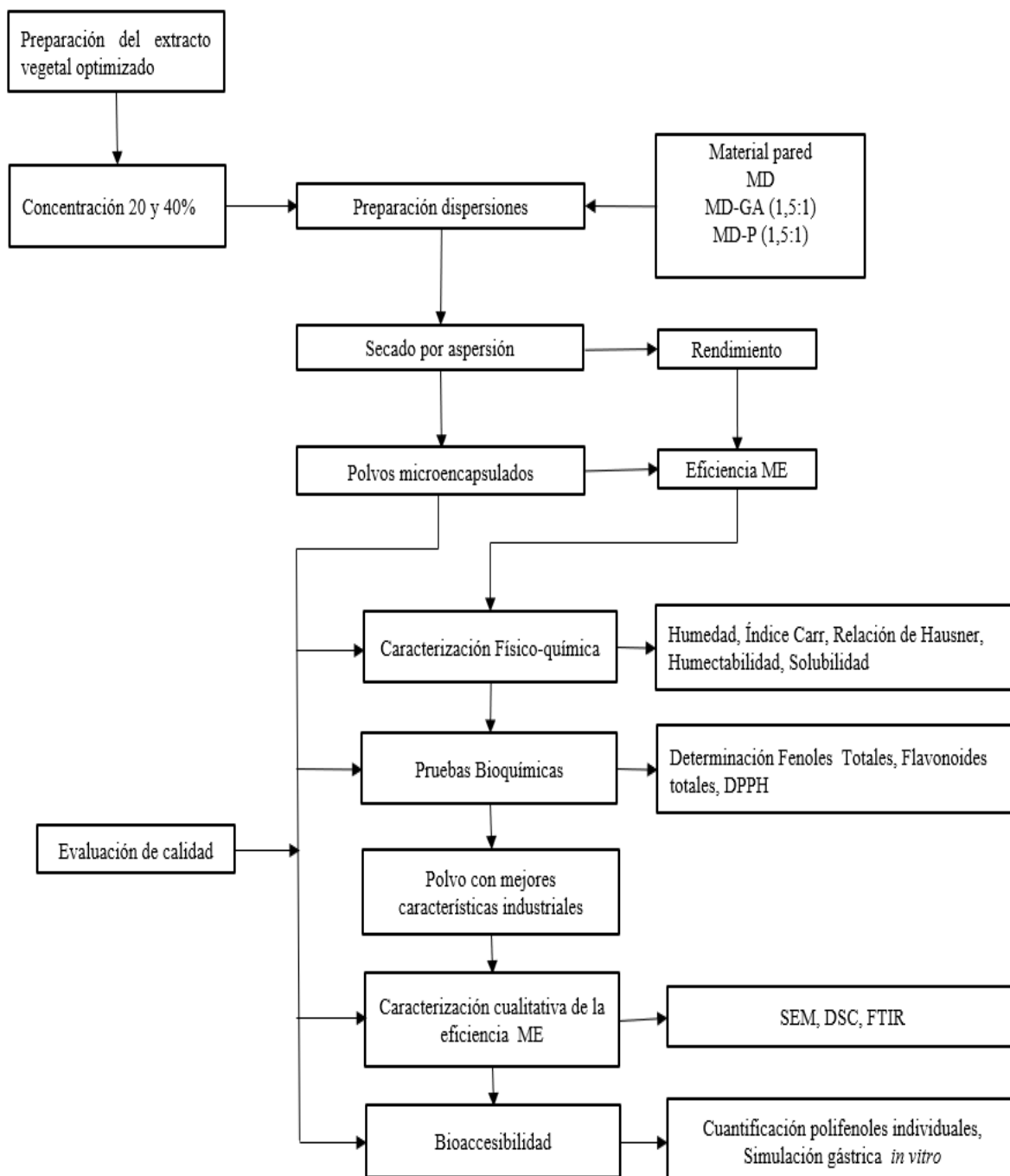
- Sharma, M., Choudhury, P. K., & Dev, S. K. (2017). Formulation and In-vitro-in-vivo evaluation of alginate-chitosan microspheres of glipizide by ionic gelation method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(7), 385–390. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i7.18725>
- Silva Faria, W. C., Oliveira, M. G. de, Cardoso da Conceição, E., Silva, V. B., Veggi, N., Converti, A., Miguel de Barros, W., Fernandes da Silva, M., & Bragagnolo, N. (2020). Antioxidant efficacy and in silico toxicity prediction of free and spray-dried extracts of green Arabica and Robusta coffee fruits and their application in edible oil. *Food Hydrocolloids*, 108, 106004. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106004>
- Simons, S. J. R., Rossetti, D., Pagliai, P., Ward, R., & Fitzpatrick, S. (2004). Predicting the performance of granulation binders through micro-mechanistic observations. *Powder Technology*, 140(3), 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.01.014>
- Sousa, M. de M., Lima, R. M. T. de, Lima, A. de, Reis, A. C., Cavalcante, A. A. de C. M., Sattler, J. A. G., Almeida-Muradian, L. B. de, Lima Neto, J. de S., Moreira-Araujo, R. S. dos R., & Nogueira, N. do N. (2021). Antioxidant action and enzyme activity modulation by bioaccessible polyphenols from jambolan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). *Food Chemistry*, 363(May). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130353>
- Stalmach, A., Williamson, G., & Crozier, A. (2014). Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food and Function*, 5(8), 1727–1737. <https://doi.org/10.1039/c4fo00316k>
- Ștefănescu, B. E., Nemes, S. A., Teleky, B. E., Călinoiu, L. F., Mitrea, L., Martău, G. A., Szabo, K., Mihai, M., Vodnar, D. C., & Crișan, G. (2022). Microencapsulation and Bioaccessibility of Phenolic Compounds of Vaccinium Leaf Extracts. *Antioxidants*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antiox11040674>
- Sun, X., Cameron, R. G., Manthey, J. A., Hunter, W. B., & Bai, J. (2020). Microencapsulation of tangeretin in a citrus pectin mixture matrix. *Foods*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/foods9091200>
- Taroncher, M., Vila-Donat, P., Tolosa, J., Ruiz, M. J., & Rodríguez-Carrasco, Y. (2021). Biological activity and toxicity of plant nutraceuticals: an overview. *Current Opinion in Food Science*, 42, 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.05.008>
- Tolun, A., Altintas, Z., & Artik, N. (2016). Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of Biotechnology*, 239, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.001>
- Tomsone, L., Galoburda, R., Kruma, Z., Durrieu, V., & Cinkmanis, I. (2020). Microencapsulation of horseradish (*Armoracia rusticana* L.) juice using spray-drying. *Foods*, 9(9), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9091332>
- Varzakas, T., Zakyntinos, G., & Verpoort, F. (2016). Plant food residues as a source of nutraceuticals and functional foods. *Foods*, 5(4), 1–32. <https://doi.org/10.3390/foods5040088>
- Vieira, T. M. F. S., Shimano, M. Y. H., Lima, R. da S., & De Camargo, A. C. (2019). Optimization of extraction of antioxidants from aromatic herbs and their synergistic effects in a lipid model system. *Journal of Food Bioactives*, 7, 63–72. <https://doi.org/10.31665/jfb.2019.7200>
- Vilas-Boas, A. A., Oliveira, A., Jesus, D., Rodrigues, C., Figueira, C., Gomes, A., & Pintado, M. (2020). Chlorogenic acids composition and the impact of in vitro gastrointestinal digestion on espresso coffee from single-dose capsule. *Food Research International*, 134(October 2019), 109223. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109223>
- Waterhouse AL. (2002). Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), 11-1. <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471142913.fai0101s06>
- Woo, M. W., Daud, W. R. W., Tasirin, S. M., & Talib, M. Z. M. (2007). Optimization of the spray drying operating parameters - A quick trial-and-error method. *Drying Technology*, 25(10), 1741–1747. <https://doi.org/10.1080/07373930701591093>



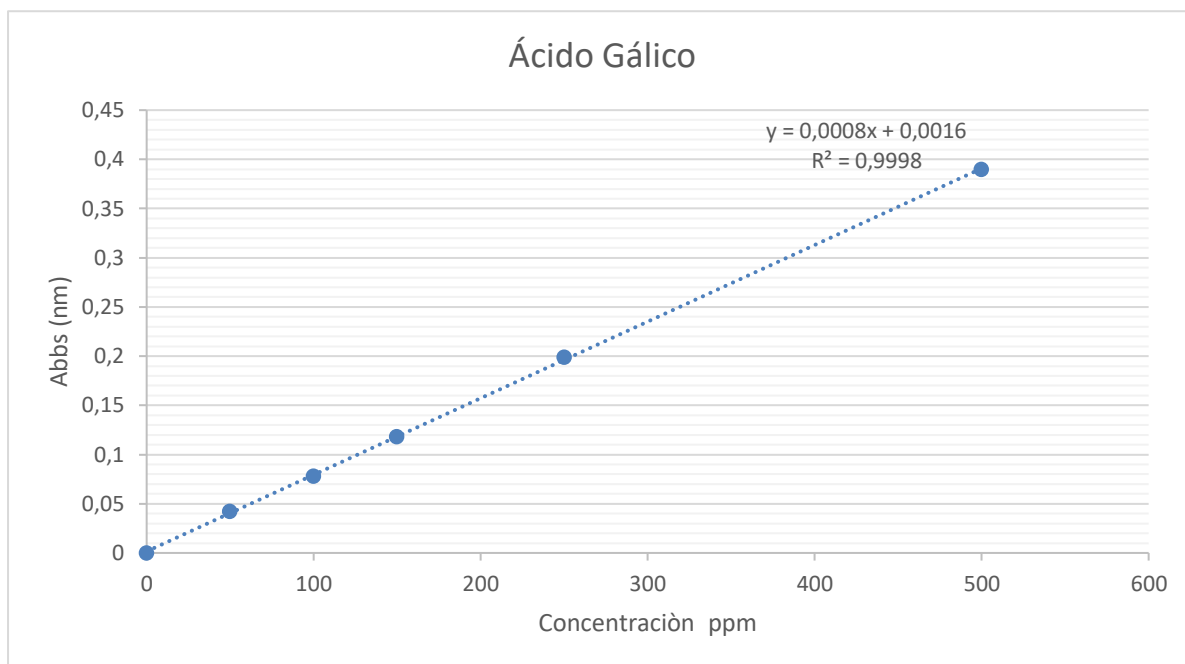
- Xiao, C., Chhu, S., Jiqian, X., Tangjaidee, P., Peng, Y., & Young Quek, S. (2021). Microencapsulation of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja Extracts: A Promising Technique to Protect Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities. *Foods*, 10(2910).
- Yamagata, K. (2018). Do coffee polyphenols have a preventive action on metabolic syndrome associated endothelial dysfunctions? An assessment of the current evidence. *Antioxidants*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/antiox7020026>
- Yang, B., Kealey, K., Chen, J., & Solval, K. M. (2022). Developing microencapsulated powders containing polyphenols and pectin extracted from Georgia-grown pomegranate peels. *Lwt*, 154(October 2021), 112644. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112644>
- Yang, Y., Zhang, Z., Li, S., Ye, X., Li, X., & He, K. (2014). Synergy effects of herb extracts: Pharmacokinetics and pharmacodynamic basis. *Fitoterapia*, 92, 133–147. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.10.010>
- Zhang, J., Zhang, C., Chen, X., & Quek, S. Y. (2020). Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage. *Journal of Food Engineering*, 269, 109744. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109744>
- Zhang, L., Zeng, X., Fu, N., Tang, X., Sun, Y., & Lin, L. (2018). Maltodextrin: A consummate carrier for spray-drying of xylooligosaccharides. *Food Research International*, 106(2017), 383–393. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.004>
- Zohreh, D. (2020). Properties of dark chocolate enriched with free and encapsulated chlorogenic acids extracted from green coffee. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1–14. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.11819>
- Zorzenon, M. R. T., Formigoni, M., da Silva, S. B., Hodas, F., Piovan, S., Ciotta, S. R., Jansen, C. A., Dacome, A. S., Pilau, E. J., Mareze-Costa, C. E., Milani, P. G., & Costa, S. C. (2020). Spray drying encapsulation of stevia extract with maltodextrin and evaluation of the physicochemical and functional properties of produced powders. *Journal of Food Science*, 85(10), 3590–3600. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15437>

## Anexos

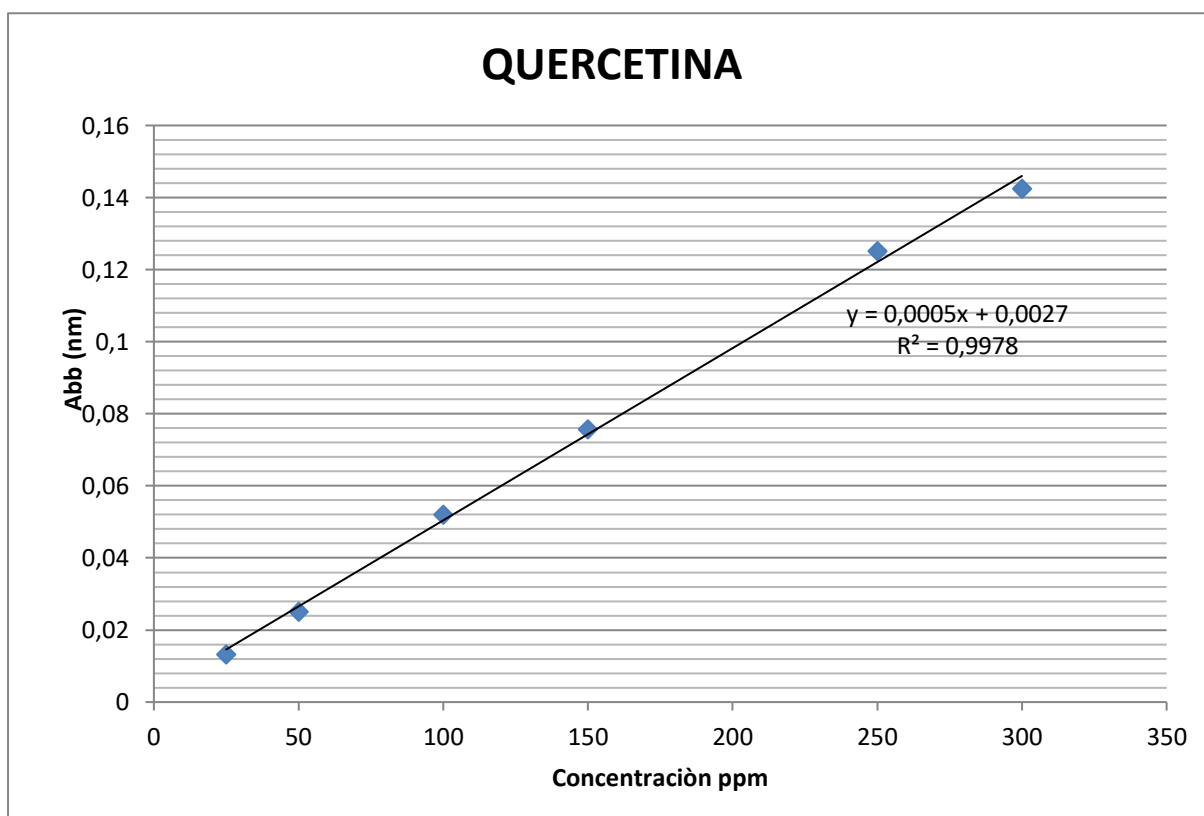
**Anexo A.** Esquema del desarrollo experimental para el diseño de un microencapsulado con potencial propiedad nutracéutica a partir de un extracto optimizado de *V. patens*, *I. guayusa* y residuos de *T. cacao*. MD: maltodextrina, GA: goma arábiga, P; pectina, ME: microencapsulación, DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo, SEM: Microscopía Electrónica de Barrido, DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido, FTIR: Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier.



**Anexo B.** Curva de calibración Ácido gálico para la cuantificación de CPT de los microencapsulados.



**Anexo C.** Curva de calibración quercetina para la cuantificación de CFT de los microencapsulados.





**Anexo D.** Curva de calibración trolox para la cuantificación de actividad antioxidante de los microencapsulados.

