

Microencapsulación de compuestos fenólicos derivados de subproductos enológicos

Microencapsulation of phenolic compounds derived from oenological by-products

Jofré, Viviana^{1,2}; Assof, Mariela^{1,2}; Cantoro-Fernandez, Eliana¹; Trillas, Fiamma¹; Fanzone, Martín^{1,2}

¹ Universidad Juan Agustín Maza. Centro de Estudios Vitivinícolas y Agroindustriales; Argentina

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza. Laboratorio de Aromas y Sustancias Naturales; Argentina

DOI: <https://doi.org/10.59872/icu.v8i10.509>

Correo de correspondencia: jofre.viviana@inta.gob.ar

Recepción: 18/06/2024; Aceptación: 19/08/2024;

Publicación: 21/10/2024

Palabras claves: Compuestos bioactivos-orujo; Maltodextrina-goma arábica; Eficiencia encapsulación, Higroscopicidad; Estabilidad

Keywords: *Bioactive compounds-grape pomace; Maltodextrin-arabic gum; Encapsulation efficiency, Hygroscopicity; Stability*

Resumen

Los orujos enológicos poseen elevadas concentraciones de polifenoles, con demostradas propiedades nutraceuticas. Aunque, por su inestabilidad química, su empleo directo en formulaciones alimentarias, cosméticas, farmacéuticas es limitado. Para preservar sus propiedades y facilitar su uso en diferentes industrias, la microencapsulación de estos compuestos surge como una alternativa sencilla, económica y eficiente. El objetivo de este trabajo fue establecer las relaciones de maltodextrina y goma arábica como materiales de pared para obtener microcápsulas de compuestos fenólicos por la técnica de liofilización, determinar propiedades asociadas y estabilidad durante la conservación. Después de la elaboración de vinos Bonarda, se recolectaron orujos, se liofilizaron y se extrajeron compuestos fenólicos con solución hidroetanólica. Posteriormente los biocompuestos extraídos se concentraron y se encapsularon con matodextrina, goma arábica y diferentes mezclas de ambos polisacáridos. Las microcápsulas obtenidas se mantuvieron en oscuridad a 4°C durante 4 meses. Se determinaron concentración de fenoles totales, eficiencia de encapsulación, higroscopicidad, parámetros CIELab y capacidad antioxidante de las microcápsulas. Para todos los tratamientos de microencapsulación, las eficiencia de encapsulación y capacidad antioxidante fueron superiores a 63% y 60%, respectivamente; en tanto que la higroscopicidad fue inferior al 6,15%. Los colores de las microcápsulas variaron entre rosa-violáceo a violeta-rojizo dependiendo del material de pared empleado. Las mezclas de polisacáridos fueron

más eficientes para microencapsular compuestos fenólicos derivados de orujos. Las microcápsulas obtenidas con la mezcla maltodextrina:goma arábica (1,7:1) y con relación pared:núcleo (2:1), conteniendo 1,9 g de fenoles totales cada 100 g de microcápsulas, fueron las que presentaron un 84,28% de retención de compuestos fenólicos al finalizar la conservación.

Abstract

Grape pomace has high concentrations of polyphenols, with proven nutraceutical properties. However, due to their chemical instability, their direct use in food, cosmetic and pharmaceutical formulations is limited. To preserve their properties and facilitate their use in different industries, microencapsulation of these compounds has emerged as a simple, economical and efficient alternative. The aim of this work was to establish the relationships between maltodextrin and gum arabic as wall materials to obtain polyphenol microcapsules by freeze-drying, determine associated properties and stability. After Bonarda winemaking, grape pomace was collected, freeze-dried and phenolic compounds were extracted with hydraethanolic solution. The extracted biocompounds were then concentrated and encapsulated with matodextrin, gum arabic and different mixtures of both polysaccharides. The obtained microcapsules were kept in the dark at 4°C for 4 months. Total phenol concentration, encapsulation efficiency, hygroscopicity, CIELab parameters and antioxidant capacity of the microcapsules were determined. For all microencapsulation treatments, the

encapsulation efficiency and antioxidant capacity were higher than 63% and 60%, respectively, while the hygroscopicity was lower than 6.15%. The colours of the microcapsules ranged from pink-violet to violet-reddish depending on the wall material used. Polysaccharide mixtures were more efficient in microencapsulating phenolic compounds derived from pomace. The microcapsules obtained with the maltodextrin:gum arabic mixture (1.7:1) and with a wall:core ratio (2:1), containing 1.9 g of total phenols per 100 g of microcapsules, showed 84.28% retention of phenolic compounds at the end of storage.

Introducción

La vid es uno de los cultivos frutales más extendidos a nivel mundial con una producción de uvas que supera los 75 millones de toneladas anuales, de los cuales cerca del 80% se destina a la elaboración de vinos. Durante el proceso de vinificación se generan residuos sólidos y líquidos, siendo el orujo el subproducto mayoritario (200-250 kg/t-uva) que se emplea, principalmente, para compostaje o para obtención de ácido tartárico y etanol (OIV, 2022; Beres *et al.*, 2017). Asimismo, los orujos de variedades tintas contienen elevadas concentraciones de compuestos fenólicos que exhiben una amplia gama de efectos biológicos como antioxidantes, moduladores de diversos sistemas enzimáticos, antimicrobianos, etc. (Pérez-Sánchez *et al.*, 2018; Beres *et al.*, 2017; Wittenauer *et al.*, 2015; Ky *et al.*, 2014).

En los últimos años, diferentes investigaciones han demostrado que los compuestos bioactivos derivados de subproductos vitivinícolas pueden utilizarse como ingredientes nutraceuticos en alimentos (Moro *et al.*, 2021; Bender *et al.*, 2020; Abreu *et al.*, 2019; Poveda *et al.*, 2018). Algunos estudios comprobaron que extractos de compuestos fenólicos provenientes de diversas fuentes naturales presentaron potenciales antimicrobiano y antioxidante comparables a los de componentes sintéticos cuando fueron incorporados en pescado (Hassoun & Çoban, 2017), aceites comestibles (Delfanian *et al.*, 2018), carnes (Cunha *et al.*, 2018) y lácteos (Kandyliari *et al.*, 2023). No obstante, los principales problemas en la incorporación directa de estos biocompuestos en formulaciones alimentarias estarían relacionados con su elevada inestabilidad en determinadas condiciones ambientales de conservación (pH, oxígeno, humedad), limitadas solubilidades en agua, aporte de sabores desagradables y escasa biodisponibilidad en medios biológicos (Faridi Esfanjani *et al.*, 2018; Massounga Bora *et al.*, 2018). Para solucionar esta problemática, la microencapsulación de estos compuestos bioactivos surge como una alternativa tecnológica adecuada para superar algunos de los inconvenientes mencionados (de Souza *et al.*, 2018).

La microencapsulación es una técnica de empaquetado de materiales en forma de micro o nanopartículas que protege los biocompuestos sensibles de la luz, la humedad, el calor o la oxidación. Esta técnica consiste en rodear un núcleo (compuesto bioactivo) por una pared (polisacáridos, proteínas, etc.). La retención del núcleo dentro de la microcápsula está controlada por diversos factores como su polaridad, volatilidad relativa, funcionalidad química. Además, el material de pared debe formar una película compatible con el núcleo, evitando reacciones químicas y proporcionando propiedades deseables de recubrimiento (resistencia térmica y oxidativa), ser inodoro, insípido y biodegradable (Mohammad *et al.*, 2024; Moro *et al.*, 2021; Šeregelj *et al.*, 2021; Delfanian & Sahari, 2020; Soukoulis & Bohn, 2018). Existen diversas técnicas de microencapsulación como secado por pulverización, enfriamiento por pulverización/refrigeración, extrusión, recubrimiento en lecho fluidizado, coacervación simple o compleja, atrapamiento en liposomas, complejación por inclusión y liofilización (Delfanian & Sahari, 2020). Dentro de esas técnicas, la liofilización es la más adecuada para la obtención de microcápsulas con núcleos de compuestos termolábiles. Esto se debe a que en el proceso de liofilización el agua se elimina a bajas temperatura y presión, preservando la estabilidad y las propiedades (bioactividad, capacidad antioxidante, etc.) de los compuestos bioactivos (Martinović *et al.*, 2024; Rezvankhah *et al.*, 2019). Esta técnica ha sido empleada, por ejemplo, para microencapsular aceite de pescado (Yang *et al.*, 2024), probióticos (Acosta-Piantini *et al.*, 2024), carotenoides de microalgas (Ledri *et al.*, 2024), compuestos fenólicos provenientes de diferentes orujos varietales (Martinović *et al.*, 2024) y de cáscaras de pomelo (Stabrauskiene *et al.*, 2024), entre otros.

En este trabajo se estudió la microencapsulación de compuestos fenólicos derivados de orujos varietales (núcleo, ME) utilizando maltodextrina (MD) y goma arábiga (GA) como materiales de recubrimiento. MD y GA fueron seleccionados como materiales de pared debido a que estos polisacáridos no son tóxicos, presentan baja viscosidad, elevadas biocompatibilidad y solubilidad, y son ampliamente empleados en las industrias agroalimentaria, farmacéutica y cosmética (Mohammad *et al.*, 2024; Xiao *et al.*, 2022; Moro *et al.*, 2021). El objetivo de este estudio fue establecer las mejores condiciones para obtener, mediante la técnica de liofilización, microcápsulas de compuestos fenólicos derivados de subproductos enológicos, evaluando diferentes proporciones MD:GA como materiales de pared (MP) y distintas relaciones pared:núcleo (MP:ME). Para esto se evaluaron propiedades relevantes de las microcápsulas (eficiencia de encapsulación, contenido de compuestos fenólicos encapsulados, higroscopicidad, capacidad antioxidante y color), y porcentaje de retención del núcleo al finalizar la conservación de microcápsulas (4 meses, 4 °C).

Materiales y Métodos

Materiales y reactivos

Ácido gálico [149-21-7], etanol grado Lichrosolv (EtOH), reactivo Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), ácido clorhídrico p.a. (ClH) y cloruro de sodio p.a. (ClNa) se adquirieron en Merck (CABA, Argentina). Ácido acético glacial (ACH, Biopack, Buenos Aires, Argentina), carbonato de sodio p.a. (Anedra, Buenos Aires, Argentina), maltodextrina (DE-10), goma arábiga de grado alimentario (Química Oeste, CABA, Argentina) y agua ultrapura (H₂O, RiO/Elix3-Sinergy185 purification system, Millipore, San Pablo, Brasil).

Obtención y procesamiento de orujos

En la Bodega Experimental de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEAMza-INTA) se realizó la vinificación de uvas Bonarda (vendimia 2023, Luján de Cuyo, Mendoza), siguiendo protocolos estándares para la variedad. Al terminar el proceso, con la finalidad de tener una muestra representativa, se extrajeron 15 kg de orujos de forma aleatoria y a distintas alturas del depósito. La muestra fue dividida aleatoriamente en submuestras de 250 g (total 60 unidades) que se guardaron en bolsas plásticas y se mantuvieron en freezer (Ultrafreezer ScienTemp, Adrian, Miami, Estados Unidos) a -80°C . Posteriormente se liofilizaron (Biobase, BK-FD10P, China) y se pulverizaron en un molino ultracentrífugo (Ultracentrifugal mil, ZM-200, Restch, Haan, Alemania) con tamiz de 1 mm. Los polvos obtenidos se guardaron en frascos de 50 mL color caramelo con tapa a rosca y se conservaron a 4°C hasta su posterior uso.

Extracción y determinación compuestos fenólicos totales

La metodología de extracción de compuestos fenólicos, incluyendo la preparación de la solución extractante, se realizó según Jofre et al. (2020), escalando la relación sólido-líquido en función del peso de la muestra. Brevemente, en un erlenmeyer de 500 mL se adicionaron 4 g polvo de orujos y 200 mL de EtOH:H₂O (1:1, pH 3,5). El sistema se sonicó durante 30 minutos en baño ultrasónico (Cole Parmer 8891, Illinois, Estados Unidos). Los sólidos se separaron por doble filtración bajo vacío. La fase líquida de las distintas extracciones se mezclaron y se conservaron en frascos color caramelo de 500 mL durante 48 h a 4°C para asegurar la posible precipitación de sólidos. Luego, la fase líquida se concentró a 30°C en rotavapor (Büchi R-100, Flawil, Suiza) al 50% del volumen inicial para eliminar EtOH. Las distintas fracciones concentradas se mezclaron, se separaron en tubos falcon de 50 mL, se cubrieron con papel aluminio y se conservaron a -20°C (Freezer horizontal Bosch HC55B, Bosch, San Pablo, Brasil) hasta su posterior uso. La determinación de fenoles totales (FT) de los extractos se realizó por el método de Folin-Ciocalteu (Boonchu & Utama-Ang, 2015), filtrando previamente los extractos en membrana de nylon 0,45 mm (Microclar, Buenos Aires, Argentina). La concentración FT promedio de los extractos fue 4.558 (± 293) mg/L. Estos extractos acuosos concentrados se emplearon como material a encapsular (núcleo, ME).

Preparación de microcápsulas

Las microcápsulas se obtuvieron empleando la técnica de liofilización. Se prepararon soluciones de MD al 20% y GA al 10% según la metodología propuesta por Cilek et al. (2012). Cada solución fue diluida con H₂O para tener la cantidad de material de pared requerida para cada tratamiento. En cada tratamiento (Tabla 1) se adicionó un volumen determinado de solución acuosa concentrada de FT a la solución de MD. La mezcla se agitó durante 5 min a 350 rpm en agitador magnético (Decalab, Buenos Aires, Argentina) y, posteriormente, se adicionó la solución de GA. La mezcla se agitó 5 min a 350 rpm. En cada solución obtenida se midió el pH (pHmetro Altronix-TPX1, Nueva York, Estados Unidos) y se ajustó a 3,5 con AcH (10%V/V). La mezcla se sonicó con sonda ultrasónica (homogeneizador ultrasónico JY-92-IIN, China) durante 10 min (power 40%, T_{máx.} 40°C , on 2 seg., off 2 seg.) y se dejó 24 h en reposo a 4°C . Cada tratamiento se realizó en 3 réplicas (en diferentes días). Posteriormente la fase sólida se separó de la fase líquida por filtración al vacío. Las microcápsulas obtenidas se llevaron a -80°C , luego se liofilizaron y se conservaron en viales ambar a 4°C .

Tabla 1. Tratamientos empleados para microencapsular compuestos fenólicos extraídos de orujos varietales.

Tratamiento ¹	MP ²	ME (mg) ³	MD (g) ⁴	GA (g) ⁴	MD/GA ⁵	MP/ME ⁶
1	MD	91,9	1,20	0,00		13
2	MD	91,9	1,75	0,00		19
3	MD	91,9	2,40	0,00		26
4	GA	91,9	0,00	1,20		13
5	MD-GA	122,8	0,15	0,09	1,7	2
6	MD-GA	122,8	0,40	0,80	0,5	10
7	MD-GA	122,8	0,80	0,80	1,0	13
8	MD	156,9	2,05	0,00		13
9	GA	156,9	0,00	2,05		13
10	MD-GA	156,9	0,50	1,00	0,5	10
11	MD-GA	156,9	0,20	0,12	1,7	2
12	MD-GA	315,0	0,39	0,23	1,7	2
13	MD-GA	315,0	1,00	2,00	0,5	10
14	MD-GA	315,0	2,00	2,00	1,0	13

¹ Cada tratamiento se realizó en 3 réplicas en diferentes días.

² MP Materiales de pared: maltodextrina (MD), goma arábica (GA).

³ ME (núcleo de microcápsulas) Peso del material a encapsular (compuestos fenólicos totales) empleado en cada tratamiento de microencapsulación.

⁴ Peso de MD y GA empleado en cada tratamiento de microencapsulación.

⁵ Relación entre MD y GA que conforman el material de pared.

⁶ Relación entre pared y núcleo.

Determinación de eficiencia de encapsulación porcentual

Se determinaron las concentración de fenoles totales (FTt) y de fenoles superficiales (FTs) de las microcápsulas. Para estimar FTt, en un tubo eppendorff de 2,5 mL, se pesaron 100 mg de microcápsulas y se adicionaron 2 mL de EtOH:AcH:H₂O (50:10:40); posteriormente se sonicó durante 30 min, se centrifugó (15 min, 14.000 rpm) y se filtró en membrana de nylon 0,45 µm. Para estimar FTs, en un tubo eppendorff de 2,5 mL, se pesaron 100 mg de microcápsulas, se adicionaron 2 mL de etanol absoluto, se vorteoó (1 min., 12.000 rpm), se centrifugó (15 min, 14.000 rpm) y se filtró en membrana de nylon 0,45 µm. La cantidad de FTt y FTs se cuantificó por el método de Folin-Ciocalteu (Boonchu & Utama-Ang, 2015). La concentración de compuestos fenólicos, evaluada espectrofotométricamente a λ=750 nm, se expresó en equivalentes de ácido gálico. La eficiencia de encapsulación porcentual (%EE) se determinó según la Ecuación 1 (da Silva Júnior *et al.*, 2023).

Ecuación 1

$$\%EE = \frac{(FTt-FTs)}{FTt} \times 100$$

Determinación de capacidad antioxidante

100 mg de microcápsulas se solubilizaron en 2 mL de EtOH:AcH:H₂O (50:10:40), posteriormente se sonicó durante 30 min, se centrifugó (15 min, 14.000 rpm) y se filtró en membrana de nylon 0,45 µm. La capacidad antioxidante se determinó según Brand-Williams *et al.* (1995), y se expresó como porcentaje de eficiencia antirradicalaria (%FRSA), según la Ecuación 2 (Gaber Ahmed *et al.*, 2020).

Ecuación 2

$$\%FRSA = \frac{A_0 - A_M}{A_0} \times 100$$

Donde, A₀ y A_M son las medidas de absorbancias a λ= 515 nm del blanco y de la muestra, respectivamente.

Determinación de higroscopicidad

En un tubo de 5 mL, se pesó 1 g de microcápsulas y se introdujo (sin tapa) en un recipiente hermético que contenía una solución saturada de ClNa (75% de humedad relativa). Se dejó durante 7 días en oscuridad a 25 °C y se determinó porcentaje de agua absorbida según la Ecuación 3 (Davidov-Pardo *et al.*, 2013). Este estudio se realizó por quintuplicado.

$$\%H = (P_f - P_o) \times 100$$

Ecuación 3

Donde, P_f y P_o son los pesos final e inicial de microcápsulas, respectivamente.

Determinación de color

En un vidrio portaobjeto se pesaron 100 mg de microcápsulas, se cubrió con cubreobjeto y se efectuaron medidas colorimétricas (Konica Minolta CR-300, Sensing Inc., Japón) para determinar parámetros CIE Lab (L* luminosidad, a* parámetro rojo/verde; b* parámetro azul/amarillo, C*_{ab} saturación, h_{ab} tonalidad). Como testigo de estudio, se emplearon polvos de orujo Bonarda sin encapsular (BN). Todas las determinaciones se realizaron por quintuplicado. Se evaluó la diferencia de color entre BN y los microencapsulados según la Ecuación 4 (Zhang *et al.*, 2023).

Ecuación 4

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Donde ΔE*_{ab} es la diferencia de color determinada como la distancia Euclidiana entre dos puntos en el espacio tridimensional de color (L*a*b*): ΔL= L*₂-L*₁; Δa=a*₂-a*₁; Δb=b*₂-b*₁.

Estabilidad

Las microcápsulas, por quintuplicado, se conservaron 4 meses a 4 °C. A los 120 días se determinó FT y capacidad antioxidante (da Silva Júnior *et al.*, 2023). El porcentaje de retención (%R) de FT en microcápsulas se determinó por la diferencia de la concentración de fenoles totales iniciales (FT0) y la concentración de fenoles totales al finalizar la conservación (FTf), según la Ecuación 5.

Ecuación 5

$$\%R = (FT_0 - FT_f) \times 100$$

Análisis estadísticos

Los resultados de todos los análisis se evaluaron empleando metodologías estadísticas. Se realizaron estudios de normalidad de datos (test Shapiro-Wilks) y homogeneidad de las varianzas (test Cochran). Se realizaron estudios de análisis de varianza (ANOVA), comparación múltiple de medias (test de Tuckey HD), estudios de regresión y de correlación (test de Pearson). Los estudios estadísticos se realizaron con un nivel de significancia del 95% ($\alpha= 0,05$). Los softwares empleados fueron Statgraphics Centurion XVI versión 6.1.11. (Stat Points, Techonologies INC, Estados Unidos) y GraphPad 7.0 (GrahPad Inc. CA, USA).

Resultados

En la Tabla 2 se presentan los resultados de concentración de fenoles totales, %EE, %FRSA, color y porcentaje de higroscopicidad (%H) de las distintas microcápsulas obtenidas. Se observó que cuando la concentración de FT empleada como material a encapsular (ME) fue 91,9 mg de fenoles totales cada 100 g solución inicial ($C_0=mg/100gS_0$), la concentración de FT las microcápsulas (CFT) estuvo comprendida entre 243,36 y 557,12 mg de fenoles totales cada 100 g de microcápsulas. Para ME=122,8 mg/100g S_0 , CFT varió entre 646,24 y 1.743,72 mg/100g. En tanto que para ME=156,9 mg/100g S_0 , CFT se presentó en el intervalo 700,18-1.888,17 mg/100g; y para ME=315 mg/100g S_0 , CFT estuvo entre 536,90 y 2.087,65 mg/100g. Para todos los tratamientos, %EE varió entre 63% y 92%; %FRSA, entre 60% y 87% y %H, entre el 1,63% y el 6,15%.

Tabla 2. Contenido de fenoles totales, eficiencia porcentual de encapsulación, capacidad antioxidante, color e higroscopicidad de microcápsulas de compuestos fenólicos extraídos de orujos varietales, obtenidas por diferentes tratamientos de microencapsulación.

Tratamiento ¹	1	2	3	4	5	6	7
ME (mg/100g) ²	91,9				122,8		
CFT (mg/100g) ³	476,66 (7,6)b	318,16 (4,8)a	243,36 (13,7)a	557,12 (13,3)b	1.743,72 (12,4)b	870,67 (4,1)a	646,24 (3,1)a
%EE ⁴	65,86 (4,9)a	67,95 (5,9)a	65,04 (7,5)a	68,23 (9,4)a	72,37 (6,2)b	92,15 (6,6)b	68,39 (6,9)a
%FRSA ⁵	67,54 (3,4)b	63,12 (2,4)ab	60,12 (4,12)a	69,20 (4,21)b	83,04 (6,1)b	74,15 (2,6)a	70,89 (2,5)a
L* ⁶	62,20 (0,3)a	67,29 (0,4)b	69,36 (0,1)d	67,90 (0,2)c	59,35 (0,4)a	60,72 (0,1)b	61,60 (0,1)c
a* ⁶	22,09 (0,2)d	18,65 (0,5)b	18,91 (0,1)c	9,80 (0,2)a	19,25 (0,2)c	15,04 (0,21)a	15,26 (0,2)b
b* ⁶	-4,82 (0,2)a	-5,20 (0,1)c	-4,98 (0,2)b	-6,50 (0,1)d	-4,93 (0,1)a	-7,74 (0,1)c	-6,49 (0,1)b
C* _{ab} ⁶	22,61 (0,2)d	19,36 (0,4)b	19,56 (0,1)c	11,75 (0,1)a	19,94 (0,2)c	16,92 (0,2)a	16,59 (0,1)b
h _{ab} ⁶	-0,22 (0,1)a	-0,28 (0,4)c	-0,26 (0,2)b	-0,79 (0,1)d	-0,26 (0,4)a	-0,56 (0,1)c	-0,45 (0,2)b
%H ⁷	2,35 (1,9)a	2,02 (1,9) ab	1,63 (2,1)a	5,95 (8,5)c	5,54 (4,8)b	5,30 (1,2)b	4,47 (4,6)a
Tratamiento ¹	8	9	10	11	12	13	14
ME (mg/100g) ²	156,9				315,0		
CFT (mg/100g) ³	700,18 (10,8)a	790,34 (7,8)a	865,61 (2,8)a	1.888,17 (10,7)b	2.087,65 (9,4)c	843,98 (3,4)b	536,90 (3,5)a
%EE ⁴	63,51 (2,3)a	66,50 (3,4)a	87,39 (4,8)c	71,80 (2,9)b	66,29 (8,5)a	79,84 (5,2)b	65,13 (3,1)a
%FRSA ⁵	71,73 (3,7)a	73,08 (3,2)a	74,09 (2,4)a	85,9 (4,2)b	87,07 (4,7)b	73,81 (2,53)a	68,73 (2,7)a
L* ⁶	59,84 (0,1)b	66,05 (0,1)d	59,92 (0,1)c	59,35 (0,4)a	59,00 (0,2)a	60,73 (0,1)b	75,7 (0,1)c
a* ⁶	24,43 (0,1)d	10,54 (0,1)a	14,59 (0,01)b	19,29 (0,2)c	19,35 (0,2)c	14,57 (0,3)b	8,00 (0,4)a
b* ⁶	-4,81 (0,1)a	-6,99 (0,1)d	-7,64 (0,1)c	-5,04 (0,1)b	-4,95 (0,1)b	-7,58 (0,2)c	-4,07 (0,2)a
C* _{ab} ⁶	24,89 (0,1)d	12,64 (0,1)a	16,47 (0,1)b	19,94 (0,2)c	20,01 (0,1)c	16,42 (0,3)b	8,97 (0,3)a
h _{ab} ⁶	-0,19 (0,1)a	-0,79 (0,1)d	-0,58 (0,1)c	-0,26 (0,4)b	-0,26 (0,4)a	-0,58 (0,2)c	-0,56 (0,2)b
%H ⁷	1,87 (1,4)a	6,15 (8,2)c	5,23 (3,5)b	5,64 (4,7)bc	5,74 (4,6)c	2,66 (7,7)a	3,91 (4,7)b

¹ Composición material de pared ver Tabla 1.

² Peso de compuestos fenólicos totales (núcleo) empleado en cada tratamiento de microencapsulación, expresado como mg cada 100 g de solución inicial.

³ CFT concentración de fenoles totales, expresada en mg cada 100 g de microcápsulas. Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n= 3).

⁴ Porcentaje de eficiencia de encapsulación. Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n=3).

⁵ Porcentaje de depuración de radicales libres (eficiencia antirradicalaria). Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n=3).

⁶ Parámetros de color (CIELab): L* luminosidad; a* componente verde/rojo; b* componente amarillo/azul; C*_{ab} saturación; h_{ab} tonalidad. Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n=5).

⁷ Higroscopicidad porcentual: (peso final de microcápsulas - peso inicial de microcápsulas)x100. Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n=5).

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas de CFT, %EE, %FRSA, parámetro CIELab y %H entre distintos tratamientos para cada nivel de ME (Test de Tukey HD, $\alpha=0,05$).

En la Tabla 3 se presentan CFT y %FRSA de las microcápsulas a los 120 días de conservación a 4 °C. Se observó que al finalizar la conservación, los tratamientos 5, 11 y 12 ($p_v=0,4706$) no se diferenciaron entre ellos con una concentración de fenoles totales promedio (CFT_{prom}) de 1.588,22 mg/100g y %FRSA_{prom}=80,65%. Lo mismo ocurrió entre los tratamientos 6, 10 y 13 ($p_v=0,2456$), que presentaron CFT_{prom}=702,75 mg/100g y %FRSA_{prom}=71,80%.

Tabla 3. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de microcápsulas obtenidas por diferentes tratamientos al finalizar la conservación (4 meses, 4 °C)

Tratamiento ¹	CFT (mg/100g) ²	%FRSA ³	Tratamiento ¹	CFT (mg/100g) ³	%FRSA ³
1	339,71 (3,1)	63,13 (0,5)	8	501,22 (12,4)	68,87 (1,9)
2	215,86 (16,8)	58,90 (3,3)	9	560,35 (11,3)	69,19 (1,7)
3	161,20 (12,4)	55,50 (2,6)	10	724,59 (2,9)	72,15 (0,4)
4	390,71 (22,8)	65,22 (3,6)	11	1.613,31 (13,8)	80,85 (1,9)
5	1.459,33 (17,2)	79,70 (5,2)	12	1.692,01 (10,8)	81,40 (1,5)
6	699,20 (4,1)	71,35 (0,6)	13	690,44 (6,5)	71,90 (0,9)
7	493,75 (12,3)	67,60 (2,0)	14	415,53 (15,0)	66,24 (2,7)

¹ Tratamientos ver Tablas 1 y 2.

² CFT concentración de fenoles totales, expresada en mg cada 100 g de microcápsulas. Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n= 3).

³ Porcentaje de depuración de radicales libres (capacidad antioxidante). Entre paréntesis, desviación estándar relativa porcentual (n=3).

Discusión

Microencapsulación de compuestos fenólicos

En este trabajo, se estudió exhaustivamente la microencapsulación de compuestos fenólicos extraídos de orujos varietales Bonarda usando maltodextrina y goma arábiga (Tabla 1).

En general, para todos los tratamientos, CFT (>240 mgFT/100g, Tabla 2) fue superior a los obtenidos en otros estudios en los que microencapsularon compuestos fenólicos derivados de orujos. Por ejemplo, Tolun et al. (2016) empleando individualmente MD y GA como material de recubrimiento, observaron que el contenido total de compuestos fenólicos extraídos de orujos estuvo comprendido entre 5,20 a 16,50 mgFT/g, y no varió con el tipo de polisacárido empleado.

En este estudio, cuando se emplearon como materiales de pared MD sola (1, 2, 3 y 8) o GA sola (4 y 9) no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p_v=0,6024$) en %EE (%EE_{prom}=66,18±3,44) y fue el menor de todas las microcápsulas obtenidas (Tabla 2). Asimismo, los tratamientos que presentaron mayor %EE (6, 10 y 13) fueron los que tuvieron como material de pared una relación de polisacáridos (MD/GA) de 0,5 unidades, y una relación pared/núcleo (MP/ME) igual a 10 unidades. Estos tratamientos presentaron %EE_{prom}=86,46% y no mostraron diferencias significativas entre ellos ($p_v=0,0574$). Esto podría atribuirse a que cuando el material de pared tiene mayor proporción de GA, la estructura es menos porosa y facilita la estabilidad y la retención de los compuestos del núcleo (Đorđević et al., 2014). Los resultados de este estudio fueron coincidentes con los presentados por diversos autores cuando microencapsularon compuestos fenólicos empleando mezclas de MD y GA como material de recubrimiento (Chen et al., 2024; da Silva Júnior et al., 2023; Davidov-Pardo et al., 2013; Rockenbach et al., 2011).

Además, en todas las microcápsulas obtenidas, la eficiencia antirradicalaria (%FRSA: 60,12%-87,07%, Tabla 2) fue, en promedio, 3 veces superior a la capacidad antioxidante presentada por orujos Bonarda sin microencapsular (%FRSA =24,01±0,89), y mayores a los presentados por otros orujos varietales (Jofre et al., 2020; Ky, Lorrain, et al., 2014); aunque similares a la capacidad antioxidante de microcápsulas de compuestos fenólicos extraídos de granada (Hamid et al., 2020; Kaderides et al., 2020) y de yerba mate (Nunes et al., 2015).

Evaluación de la metodología de microencapsulación de compuestos fenólicos

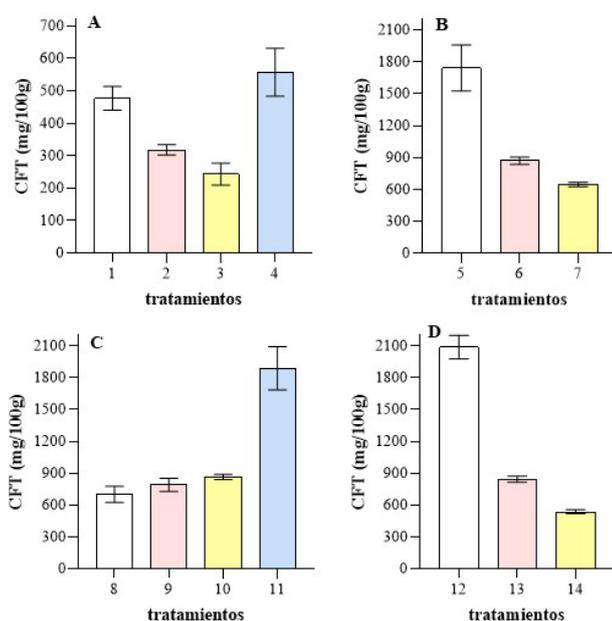
En la primera fase de estudio, se evaluó la eficiencia de los materiales de pared individuales para microencapsular los compuestos fenólicos. Para esto se emplearon GA y distintos niveles de MD, manteniendo constante la concentración de ME (C₀=91,9 mg/100gS₀). Se observó que a medida que aumentó la concentración de MD (1,2, 1,75 y 2,4 g/100g) disminuyó la concentración de FT microencapsulados. Este mismo efecto (mayor MD, menor CFT) se presentó cuando se encapsularon compuestos fenólicos de jugos de amla (Ozkan et al., 2019). Esto podría deberse a que al incrementar la cantidad de material de pared alrededor del extracto fenólico, se reduciría la concentración del biocompuesto en las microcápsulas (Hamid et al., 2020). Asimismo, se observó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos 1 y 4 (MP/ME=13). En tanto que los tratamientos 2 (MP/ME=19) y 3 (MP/ME=26) microencapsularon FT un 38% y 52% menos que los anteriores, respectivamente (Fig. 1A). Además, los tratamientos 1, 2, 3 y 4 concentraron FT en microcápsulas 5,19, 3,46, 2,65 y 6,06 veces, respectivamente, en relación con la masa de ME adicionada en estos ensayos (Tabla 2).

Posteriormente, se evaluó la microencapsulación de FT ($C_0=122,8 \text{ mg}/100\text{gS}_0$) con distintas relaciones MD/GA. Los tratamientos 5 (MD/GA=1,7, MP/ME=2), 6 (MD/GA=0,5, MP/ME=10) y 7 (MD/GA=1, MP/ME=13), presentaron diferencias significativas en el contenido de FT microencapsulados. Para el mismo nivel de ME, cuando MP/ME=2, FT microencapsulado fue 2 y 2,7 veces mayor que los tratamientos que se obtuvieron con relaciones MP/ME=10 y 13, respectivamente (Fig. 1B). Por otro lado, los tratamientos 5, 6 y 7 concentraron FT en microcápsulas 14,2, 7,09 y 5,26 veces, respectivamente, en relación con ME (Tabla 2).

A partir de los resultados previos, se hizo un estudio comparativo entre las mejores respuestas obtenidas con $C_0=156,9 \text{ mg}/100\text{gS}_0$. Se evaluaron como materiales de pared MD sola (MP/ME=13, trat. 8), GA sola (MP/ME=13, trat. 9), las combinaciones MD/GA=0,5 (MP/ME=10, trat.10) y MD/GA=1,7 (MP/ME=2, trat.11). Se observó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos 8, 9 y 10, que tuvieron $\text{CFT}_{\text{prom}}=785,83 \text{ mg}/100\text{g}$ de microcápsulas, representando cerca del 42% de lo microencapsulado por el tratamiento 11 (Fig. 1C). Asimismo, los tratamientos 8, 9, 10 y 11 concentraron FT en microcápsulas 4,46, 5,04, 5,52 y 12,04 veces, respectivamente (Tabla 2).

En general, se observó que los tratamientos que produjeron microcápsulas con CFT superiores a 860 mg/100 g (Tabla 2) se obtuvieron con las relaciones MP/ME=2 y 10, y cuyo material estuvo conformado por la mezcla de MD y GA (MD/GA=1,7 y 0,5). En base a esos resultados, se evaluaron esas mezclas considerando un nivel alto de ME ($C_0=315 \text{ mg}/100\text{gS}_0$), y se incorporó un ensayo de relación MD/GA intermedia. Se comprobó que los tratamientos 13 (MD/GA=0,5, MP/ME=10) y 14 (MD/GA=1, MP/ME=13) formaron microcápsulas con niveles de CFT próximos a un 60% y a un 75%, respectivamente, inferiores (Fig. 1D, Tabla 2) a la obtenida por el tratamiento 12 (MD/GA=1,7; MP/ME=2).

Figura 1. Concentración de compuestos fenólicos en microcápsulas obtenidas por diferentes tratamientos de microencapsulación. Tratamientos: ver Tabla 1. CFT: Concentración de compuestos fenólicos totales expresada como mg FT cada 100 g de microcápsulas. A) $C_0=91,9 \text{ mgFT}/100\text{gS}_0$; B) $C_0=122,8 \text{ mgFT}/100\text{gS}_0$; C) $C_0=156,9 \text{ mgFT}/100\text{gS}_0$; D) $C_0=315 \text{ mgFT}/100\text{gS}_0$, siendo C_0 la concentración de material a encapsular (núcleo) cada 100 g de solución inicial.



Otro punto de estudio fue analizar si el nivel de C_0 incidió sobre la concentración de fenoles totales de las microcápsulas obtenidas por diferentes tipos y relaciones de materiales de pared y por distintas relaciones MP/ME (Tabla 2). En primer lugar, se evaluaron 2 niveles de C_0 en las microcápsulas conformadas por polisacáridos individuales. Los tratamientos de $C_0=91,9 \text{ mg}/100\text{gS}_0$, 1 (MD) y 4 (GA) no se diferenciaron significativamente entre ellos ($p_v=0,1671$). Asimismo, los tratamientos de $C_0=156,9 \text{ mg}/100\text{gS}_0$, 8 (MD) y 9 (GA) tampoco se diferenciaron entre ellos ($p_v=0,1863$). Aunque, estos 4 tratamientos, que tuvieron la misma relación entre pared y núcleo (MP/ME=13), se diferenciaron entre ellos ($p_v=0,0003$) en CFT por el nivel de C_0 . Así, se comprobó que cuando MP/ME=13 y las microcápsulas estuvieron conformadas por MD sola o GA sola, CFT estuvo influenciada por C_0 y no por el tipo de material de pared (Đorđević et al., 2014).

Los tratamientos 6 ($C_0=122,8 \text{ mg}/100\text{gS}_0$), 10 ($C_0=156,9 \text{ mg}/100\text{gS}_0$) y 13 ($C_0=315 \text{ mg}/100\text{gS}_0$), que tuvieron como material de pared una mezcla de MD y GA (MD/GA=0,5) y MP/ME=10, no mostraron diferencias significativas en CFT ($p_v=0,5372$). Igual

que en el caso anterior, los tratamientos 5 ($C_0=122,8 \text{ mg}/100\text{gS}_0$), 11 ($C_0=156,9 \text{ mg}/100\text{gS}_0$) y 12 ($C_0=315 \text{ mg}/100\text{gS}_0$), con MD/GA=1,7 y MP/ME=2, no mostraron diferencias significativas en CFT $p_v=0,1466$).

Higroscopicidad de microcápsulas

La higroscopicidad, expresada como higroscopicidad porcentual (%H), es la capacidad de un material para absorber la humedad en un ambiente con alta humedad relativa porcentual. Este parámetro se considera como un factor crítico en procesos de microencapsulación, debido a que el porcentaje de agua absorbida por MP incide en procesos oxidativos de los biocompuestos encapsulados y en su estabilidad, como también en la fluidez y capacidad de dispersión de las microcápsulas (Sanchez Reinoso, 2016). Asimismo, %H está relacionado con la estabilidad de las microcápsulas, ya que la composición del material de pared afecta la porosidad y la difusión de los compuestos atrapados hacia el medio. De esta manera, %H está influenciado significativamente por la naturaleza hidrofílica y el peso molecular de los materiales de pared (Đorđević *et al.*, 2014).

En la Tabla 2 se muestran los valores de higroscopicidad porcentual para todos los tratamientos, los cuales variaron entre el 1,63% y el 6,15%. A partir de estos valores se podría estimar que las microcápsulas preservarían los biocompuestos del núcleo, ya que %H superiores al 14% la pared de las microcápsulas puede solubilizarse, perdiendo sus propiedades protectoras frente a agentes externos (oxígeno, luz, radicales libres) que podrían degradar los compuestos fenólicos (Silva *et al.*, 2013).

Los valores obtenidos en este estudio fueron inferiores a los presentados por diversos autores. Diferentes trabajos mostraron que microcápsulas de MD y GA conteniendo compuestos fenólicos extraídos de moras tuvieron %H entre 13% y 25% (Khalifa *et al.*, 2019), con compuestos fenólicos extraídos de cacao tuvieron %H entre 7% y 12% (Sanchez Reinoso, 2016), con compuestos fenólicos extraídos de orujos tuvieron %H entre 5% y 7% (Davidov-Pardo *et al.*, 2013).

Los tratamientos que tuvieron como material de pared sólo MD (1, 2, 3 y 8) fueron los que presentaron menor %H comparados con el resto (Tabla 2). Los tratamientos 1 y 8 que tuvieron igual relación MP/ME=13 no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero se diferenciaron estadísticamente de los tratamientos 2 (MP/ME=19) y 3 (MP/ME=26). La disminución de %H a medida que se incrementó el porcentaje de MD en las microcápsulas podría deberse a que %H está asociada a la temperatura de transición vítrea (T_g), donde altos valores de T_g generan baja higroscopicidad (Villacrez *et al.*, 2014). Estos autores confirmaron que cuando la concentración de maltodextrina aumentaba, se incrementaban los valores de T_g en los polvos y disminuía la higroscopicidad de microcápsulas obtenidas por secado por aspersión. Otro aspecto que se observó fue que estas microcápsulas mantuvieron su aspecto de polvo (imágenes no mostradas) cuando las mismas estuvieron conservadas durante 7 días en un ambiente de 75% de humedad relativa porcentual (HR%), diferenciándose de las microcápsulas obtenidas por el resto de los tratamientos. Esto se debería a que la maltodextrina empleada sola como material de pared es poco higroscópica y evita la aglomeración de partículas, lo que hace que los polvos tengan una fluidez adecuada y puedan mostrar mejores condiciones de conservación durante el almacenamiento (Rodrigues do Amaral *et al.*, 2019).

Por otro lado, los tratamientos que tuvieron sólo GA como material de pared (4 y 9) no mostraron diferencias significativas entre ellos y fueron los que presentaron los valores de %H más elevados en comparación con el resto de los tratamientos, y mostraron un aspecto gomoso al finalizar el ensayo. Esto podría asociarse a la elevada higroscopicidad que presenta la goma arábiga que promueve el aumento del contenido de agua en los productos, disminuyendo la fluidez de las microcápsulas y conduciendo a la reducción de los tiempos de vida media de los biocompuestos encapsulados (Qv *et al.*, 2011).

El resto de los tratamientos estuvieron conformados por un material de pared constituido por una mezcla de MD y GA en diferentes proporciones, y presentaron %H en un intervalo comprendido entre 2,6% y 5,7% (Tabla 2). Estas microcápsulas, a los 7 días de conservación (HR%=75%), mostraron un aspecto de polvo compacto. Cuando la relación MD/GA=0,5, los tratamientos 6 y 10 no mostraron diferencias significativas entre ambos, pero el tratamiento 13 presentó alrededor de un 50% menos de %H respecto a los anteriores. Cuando MD/GA=1, los tratamientos 7 y 14 no se diferenciaron entre sí ($p_v=0,0678$), y presentaron $\%H_{prom}=4,19\%$. Lo mismo ocurrió cuando MD/GA=1,7, los tratamientos 5, 10 y 12 no se diferenciaron estadísticamente entre sí ($p_v=0,0967$) y presentaron $\%H_{prom}=5,64\%$.

Color de microcápsulas

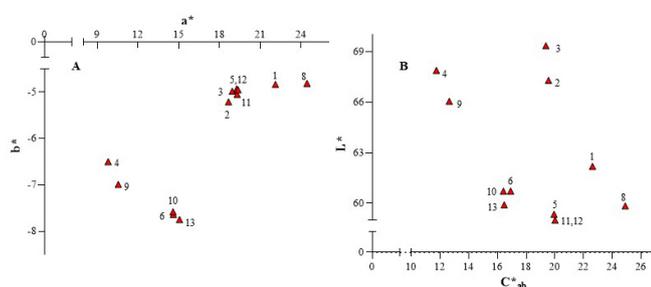
En general, para todos los tratamientos (Tabla 2), independiente del material de pared, relaciones de polisacáridos y relación MP/ME, se comprobó que la luminosidad (L^*) de microcápsulas estuvo inversamente correlacionada con CFT y con los parámetros verde/rojo (a^*) y saturación (C^*_{ab}). Los valores de coeficientes de Pearson fueron $r_{CFT-L^*}=-0,614$ ($p_v=0,0195$), $r_{C^*_{ab}-L^*}=-0,6204$ ($p_v=0,0179$) y $r_{a^*-L^*}=-0,5927$ ($p_v=0,0255$). En tanto que a^* y C^*_{ab} mostraron una correlación positiva entre ellos y con CTF, siendo los coeficientes de correlación $r_{CFT-a^*}=0,8695$ ($p_v=0,0050$), $r_{CFT-C^*_{ab}}=0,8312$ ($p_v=0,0150$) y $r_{a^*-C^*_{ab}}=0,9899$ ($p_v=0,0000$). De esta forma se observó que a medida que aumentó CFT hubo un incremento en la saturación del color, un aumento hacia el color rojo y una disminución de la luminosidad de las microcápsulas, coincidiendo con los resultados presentados por diferentes autores (Khalifa *et al.*, 2019; Janiszewska-Turak *et al.*, 2017; Sanchez Reinoso, 2016).

Los tratamientos que tuvieron solo MD (1, 2, 3 y 8) tendieron a colores rojo-violeta ($a^*_{prom}=21,02\pm 2,01$; $b^*_{prom}=-4,96\pm 0,18$) y los conformados sólo por GA (4 y 9) tendieron a violeta-rosado ($a^*_{prom}=10,17\pm 0,50$; $b^*_{prom}=-6,75\pm 0,31$) (Fig. 2A). Estos resultados

fueron coincidentes a los presentados por Chranioti *et al.* (2015) cuando microencapsularon FT de extractos de remolacha con MD y GA. Por otro lado, independientemente del material de pared, la relación L^*/C^*_{ab} se incrementó a medida que disminuyó CFT de las microcápsulas (Fig. 2B). Asimismo, para los tratamientos de MD y GA que tuvieron una relación MP/ME=13 (Tabla 1; Fig. 2B), la relación L^*/C^*_{ab} fue 2,1 veces superior a la de las microcápsulas constituidas por goma arábica. Estos resultados son coincidentes con los presentados por diversos autores en los que demostraron que las microcápsulas obtenidas con GA tuvieron mayor L^* que las de MD con el mismo nivel de concentración del compuesto bioactivo (Rezvanhah *et al.*, 2019; Idham *et al.*, 2012; Porras-Trujillo, 2012).

En la Figura 2A se muestra que los tratamientos conformados por MD/GA=0,5 (6, 10 y 13), presentaron un color violeta-rosado ($a^*_{prom}=14,73\pm 2,01$; $b^*_{prom}=-7,66\pm 0,08$) y los tratamientos con MD/GA=1,7 (5, 11 y 12), presentaron un color rosado-violeta ($a^*_{prom}=19,30\pm 0,05$; $b^*_{prom}=-4,98\pm 0,06$). Asimismo, los tratamientos 6, 10 y 13 ($CFT_{prom}=860,09\pm 14,14$ mg/100g, MP/ME=10) presentaron menor saturación que 5, 11 y 12 ($CFT_{prom}=1.906,40\pm 172,40$ mg/100g, MP/ME=2), aunque no se diferenciaron entre ambos grupos en la luminosidad de microcápsulas ($L^*_{prom}=59,85\pm 0,74$) (Fig. 2B).

Figura 2. Efecto de diferentes tratamientos de microencapsulación de compuestos fenólicos sobre el color de microcápsulas. Parámetros de color (CIELab): L^* luminosidad; a^* componente verde/rojo; b^* componente amarillo/azul; C^*_{ab} saturación. Números al lado de triángulos indican tratamientos: ver Tabla 1.



Por otro lado, con la finalidad de analizar cómo el proceso de microencapsulación afectó el color de los polvos obtenidos, se realizó un estudio comparativo entre el polvo de orujos Bonarda no encapsulados (BN) y los polvos de microcápsulas provenientes de los diferentes tratamientos. Los polvos BN no encapsulados y los microencapsulados pudieron ser diferenciados mediante observación visual. Según Zhang *et al.* (2023) cuando la diferencia de color (ΔE^*_{ab}) es mayor a 6 unidades, un observador promedio puede diferenciar distintas microcápsulas mediante la observación del color. Los resultados mostraron que ΔE^*_{ab} entre BN y los tratamientos analizados estuvo comprendida entre 27,56 y 41,74 unidades.

Los tratamientos de microencapsulación tendieron a una coloración que varió desde rosado violáceo a violeta (altos valores positivos de a^* y negativos de b^*) a diferencia de BN cuyo color fue morado oscuro, presentando valores positivos de b^* ($1,10\pm 0,01$) y bajos valores de a^* ($4,60\pm 0,10$). También se observó que los polvos BN fueron opacos ($L^* 34,41\pm 0,43$), mientras que las microcápsulas presentaron una elevada luminosidad que estaría asociada a la constitución del material de pared (Janiszewska-Turak *et al.*, 2017; Janiszewska *et al.*, 2015). Asimismo, se observó que los tratamientos de microencapsulación en relación con C^*_{ab} y h_{ab} de BN ($C^*_{ab} 4,73\pm 0,10$; $h_{ab} 0,24\pm 0,01$), presentaron un aumento en la saturación de color, que varió entre 4,2 y 20,1 unidades, y una leve disminución de la tonalidad en un intervalo comprendido entre 0,4 y 1,1 unidades.

Estabilidad de microcápsulas

Al finalizar la conservación de las microcápsulas (120 días, 4°C) hubo una disminución de CFT y %FRSA (Tablas 2 y 3), que estaría asociada al proceso de liberación activada por difusión de los compuestos fenólicos a través del material de pared (Delfanian & Sahari, 2020). Asimismo, este proceso de liberación activada por difusión depende de las propiedades físicas del material de pared (por ejemplo, el tamaño de los poros), entre otros factores (Aguar *et al.*, 2016). En este estudio se observó que el porcentaje de retención de compuestos fenólicos (%R) estuvo comprendido entre 66% y 85%, similar a lo presentado por otros autores (Antonio-Gómez *et al.*, 2021; Yinbin *et al.*, 2018; Kuck & Noreña, 2016), y esa variación dependió de MP y de la relación MP/ME.

El %R de las microcápsulas 1 y 8 (MP/ME=13; $\%R_{prom}=71,37\pm 0,31$) fue superior al $\%R_{prom}=67,04\pm 1,13$ de los tratamientos 2 (MP/ME=19) y 3 (MP/ME=26). Asimismo, los tratamientos que tuvieron una relación MP/ME=13 con MP maltodextrina (1 y 8) y con MP goma arábica (4 y 9) no mostraron diferencias significativas en %R ($p=0,1937$), y presentaron $\%R_{prom}=70,94\pm 0,61$.

Los tratamientos formulados por mezclas de MD y GA (MD/GA=1) como material de pared, con una relación MP/ME=13 (7 y 14), presentaron $\%R_{prom}=76,90\pm 0,70$, y se diferenciaron ($p=0,0004$) de los tratamientos 1, 4, 8 y 9. Los tratamientos 6, 12 y 13 (MD/GA=0,5; MP/ME=10) y los 5, 10 y 11 (MD/GA=1,7; MP/ME=2) presentaron, respectivamente, $\%R_{prom}=81,06\pm 0,75$ y $\%R_{prom}=84,28\pm 1,01$. Estos resultados mostrarían que el empleo de una mezcla de materiales de pared es una opción viable

para aumentar la eficacia del proceso de encapsulación (Khalifa *et al.*, 2019; Kuck & Noreña, 2016). Asimismo, se evidenció que las mezclas con GA, constituirían materiales de pared menos porosos que facilitarían la retención de FT (Moro *et al.*, 2021; Đorđević *et al.*, 2014). Esto condujo a que las microcápsulas obtenidas por estos tratamientos presentaran los valores más elevados de capacidad antioxidante (%FRSAprom=78% para MD/GA=1,7; MP/ME=2; %FRSAprom=75% para MD/GA=0,5; MP/ME=10). Además, estos resultados fueron coincidentes con los presentados por Tolun *et al.* (2020), que concluyeron que la combinación de maltodextrina y goma arábiga daba lugar a una mayor retención y estabilidad de los polifenoles extraídos de orujos en comparación con las microcápsulas obtenidas únicamente con maltodextrina o con goma arábiga.

Conclusiones

En este trabajo se estudió de forma integral las variables independientes que afectan la microencapsulación de compuestos fenólicos por la técnica de liofilización, contribuyendo al conocimiento del proceso de obtención de microcápsulas de biocompuestos provenientes de subproductos enológicos.

La metodología propuesta es simple y de bajo costo, y fue eficiente para microencapsular compuestos fenólicos derivados de orujos Bonarda utilizando goma arábiga, maltodextrina y combinaciones de ambos polisacáridos como agentes encapsulantes. La eficiencia de encapsulación de compuestos bioactivos varió entre el 65% y 90%. Las mezclas de polisacáridos fueron más eficientes para reducir el deterioro del núcleo, en comparación a los materiales de pared constituidos sólo por goma arábiga o por maltodextrina. En general, las microcápsulas presentaron bajas higroscopicidades y elevados porcentajes de retención de compuestos fenólicos, evidenciando que tendrían adecuadas capacidades para su transporte y almacenamiento. Asimismo, las microcápsulas presentaron colores vívidos y elevada capacidad antioxidante, lo que indicaría su potencial para ser empleadas como colorantes o antioxidantes en industrias alimentaria, cosmética o farmacéutica. Por otro lado, las microcápsulas que presentaron las concentraciones más elevadas de fenoles totales fueron obtenidas con mezcla de maltodextrina:arábiga:maltodextrina (1:7:1) y relación pared:núcleo (2:1) y, además, fueron las que retuvieron mayor cantidad de biocompuestos durante la conservación.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Proyecto I+D-2022-UMaza y por Proyecto PICTO-UUMM-2019-00007. Los autores agradecen a INTA (PE I002-P8-A12), y a J. Perez-Peña y M. Quiroga (EEAMza-INTA) por facilitar el empleo del instrumental Ultracentrifugal mil ZM-200 y Konica Minolta CR-300.

Referencias Bibliográficas

- Abreu, J., Quintino, I., Pascoal, G., Postinger, B., Cadena, R., & Teodoro, A. (2019). Antioxidant capacity, phenolic compound content and sensory properties of cookies produced from organic grape peel (*Vitis labrusca*) flour. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1215-1224. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14100>
- Acosta-Piantini, E., Villarán, M. C., Martínez, Á., & Lombraña, J. I. (2024). Examining the Effect of Freezing Temperatures on the Survival Rate of Micro-Encapsulated Probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA5 Using the Flash Freeze-Drying (FFD) Strategy. *Microorganisms*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030506>
- Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application - The specific case of coffee antioxidants - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 58, 21-39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- Antonio-Gómez, M. V., Salinas-Moreno, Y., Hernández-Rosas, F., Martínez-Bustos, F., Andrade-González, I., & Herrera-Corredor, J. A. (2021). Optimized extraction, microencapsulation, and stability of anthocyanins from *ardisia compressa* k. fruit. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 71(3), 299-310. <https://doi.org/10.31883/pjfn/140404>
- Bender, A. B. B., Speroni, C. S., Moro, K. I. B., Morisso, F. D. P., dos Santos, D. R., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2020). Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate. *LWT-Food Science and Technology*, 117(April 2019). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108652>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581-594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- Boonchu, T., & Utama-Ang, N. (2015). Optimization of extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 783-792. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1079-7>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate Antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chen, K., Zhang, M., Wang, D., Mujumdar, A. S., & Deng, D. (2024). Development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolate-gum Arabic conjugates via ultrasound-assisted wet heating for spice essential oils emulsification: Effects on water solubility, bioactivity, and sensory stimulation. *Food Chemistry*, 431(July 2023), 137001. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137001>
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., & Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate Polymers*, 127, 252-263. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.049>
- Cilek, B., Luca, A., Hasirci, V., Sahin, S., & Sumnu, G. (2012). Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: Effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *European Food Research and Technology*, 235(4), 587-596. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1786-8>
- Cunha, L. C. M., Monteiro, M. L. G., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Muchenje, V., de Carvalho, F. A. L., & Conte-Junior, C. A. (2018). Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. *Food Research International*, 111(May), 379-390. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.041>
- da Silva Júnior, M. E., Araújo, M. V. R. L., Martins, A. C. S., dos Santos Lima, M., da Silva, F. L. H., Converti, A., & Maciel, M. I. S. (2023). Microencapsulation by spray-drying and freeze-drying of extract of phenolic compounds obtained from ciriguela peel. *Scientific Reports*, 13(1), 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40390-4>
- Davidov-Pardo, G., Arozarena, I., & Marín-Arroyo, M. R. (2013). Optimization of a Wall Material Formulation to Microencapsulate a Grape Seed Extract Using a Mixture Design of Experiments. *Food and Bioprocess Technology*, 6(4), 941-951. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0848-z>
- de Souza, V. B., Thomazini, M., Echalar Barrientos, M. A., Nalin, C. M., Ferro-Furtado, R., Genovese, M. I., & Favaro-Trindade, C. S. (2018). Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 77, 297-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.040>
- Delfanian, M., Razavi, S. M. A., Haddad Khodaparast, M. H., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Golmohammadzadeh, S. (2018). Influence of main emulsion components on the physicochemical and functional properties of W/O/W nano-emulsion: Effect of polyphenols, Hi-Cap, basil seed gum, soy and whey protein isolates. *Food Research International*, 108(March), 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.043>
- Delfanian, M., & Sahari, M. A. (2020). Improving functionality, bioavailability, nutraceutical and sensory attributes of fortified foods using phenolics-loaded nanocarriers as natural ingredients. *Food Research International*, 137(April), 109555. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109555>
- Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., & Nedović, V. (2014). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452-490. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9106-7>
- Faridi Esfanjani, A., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2018). Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. *Trends in Food Science and Technology*, 76(March 2017), 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.002>
- Gaber Ahmed, G. H., Fernández-González, A., & Díaz García, M. E. (2020). Nano-encapsulation of grape and apple pomace phenolic extract in chitosan and soy protein via nanoemulsification. *Food Hydrocolloids*, 108(February). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105806>
- Hamid, Thakur, N. S., & Thakur, A. (2020). Microencapsulation of wild pomegranate flavedo phenolics by lyophilization: Effect of maltodextrin concentration, structural morphology, functional properties, elemental composition and ingredient for development of functional beverage. *Lwt*, 133(April), 110077. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110077>

- Hassoun, A., & Çoban, Ö. (2017). Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. *Trends in Food Science and Technology*, 68, 26-36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.016>
- Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. (2012). Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Food Process Engineering*, 35(4), 522-542. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00605.x>
- Janiszewska-Turak, E., Dellarosa, N., Tylewicz, U., Laghi, L., Romani, S., Dalla Rosa, M., & Witrowa-Rajchert, D. (2017). The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. *Food Chemistry*, 236, 134-141. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.134>
- Janiszewska, E., Jedlińska, A., & Witrowa-Rajchert, D. (2015). Effect of homogenization parameters on selected physical properties of lemon aroma powder. *Food and Bioproducts Processing*, 94(May), 405-413. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.05.006>
- Jofre, V., Assof, M., Vargas, E., & Fanzone, M. (2020). Determinación simultánea de carotenoides y fenoles en subproductos agroalimentarios: Microextracción Líquido-Sólido Asistida por Ultrasonido optimizada por metodologías de diseño experimental. *ICU, Investigación, Ciencia y Universidad*, 4, 20-28. <http://revistas.umaza.edu.ar/index.php/icu/article/view/341>
- Junaid, P. M., Dar, A. H., Dash, K. K., Rohilla, S., Islam, R. ul, Shams, R., Pandey, V. K., Srivastava, S., Panesar, P. S., & Zaidi, S. (2024). Polysaccharide-based hydrogels for microencapsulation of bioactive compounds: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15(September 2023), 101038. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101038>
- Kaderides, K., Mourtzinis, I., & Goula, A. M. (2020). Stability of pomegranate peel polyphenols encapsulated in orange juice industry by-product and their incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 310(November 2019), 125849. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125849>
- Kandylari, A., Potsaki, P., Bousdouni, P., Kaloteraki, C., Christofilea, M., Alpounioti, K., Moutsou, A., Fasoulis, C. K., Polychronis, L. V., Gkalpinos, V. K., Tzakos, A. G., & Koutelidakis, A. E. (2023). Development of dairy products fortified with plant extracts: antioxidant and phenolic content characterization. *Antioxidants*, 12(2), 1-21. <https://doi.org/10.3390/antiox12020500>
- Khalifa, I., Li, M., Mamet, T., & Li, C. (2019). Maltodextrin or gum Arabic with whey proteins as wall-material blends increased the stability and physicochemical characteristics of mulberry microparticles. *Food Bioscience*, 31(1), 100445. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100445>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569-576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>
- Ky, I., Crozier, A., Cros, G., & Teissedre, P. (2014). Polyphenols composition of wine and grape sub-products and potential effects on chronic diseases. *Nutrition and Aging*, 2, 165-177. <https://doi.org/10.3233/NUA-130027>
- Ky, I., Lorrain, B., Kolbas, N., Crozier, A., & Teissedre, P. L. (2014). Wine by-Products: Phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. *Molecules*, 19(1), 482-506. <https://doi.org/10.3390/molecules19010482>
- Ledri, S. A., Milani, J. M., Shahidi, S. A., & Golkar, A. (2024). Comparative analysis of freeze drying and spray drying methods for encapsulation of chlorophyll with maltodextrin and whey protein isolate. *Food Chemistry: X*, 21(November 2023), 101156. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101156>
- Martinović, J., Ambrus, R., Planinić, M., Šelo, G., Klarić, A. M., Perković, G., & Bucić-Kojić, A. (2024). Microencapsulation of Grape Pomace Extracts with Alginate-Based Coatings by Freeze-Drying: Release Kinetics and In Vitro Bioaccessibility Assessment of Phenolic Compounds. *Gels*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/gels10060353>
- Massounga Bora, A. F., Ma, S., Li, X., & Liu, L. (2018). Application of microencapsulation for the safe delivery of green tea polyphenols in food systems: Review and recent advances. *Food Research International*, 105(59), 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.047>
- Moro, K. I. B., Bender, A. B. B., da Silva, L. P., & Penna, N. G. (2021). Green Extraction Methods and Microencapsulation Technologies of Phenolic Compounds From Grape Pomace: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 14(8), 1407-1431. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02665-4>
- 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>
- OIV. (2022). Perspectivas de la producción mundial de vino. *Organización Internacional de La Viña y El Vino*, 1-8. https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/Perspectivas_de_la_produccion_mundial_de_vino_en_2022_OIV_0.pdf
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272(July 2018), 494-506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>
- Pérez-Sánchez, A., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2018). Nutraceuticals for skin care: A comprehensive review of human clinical studies. *In Nutrients* (Vol. 10, Issue 4, pp. 1-22). <https://doi.org/10.3390/nu10040403>
- Porrás-Trujillo, F. (2012). *Microencapsulación de pulpa de carambola (Averrhoa carambola L.), mediante secado por liofilización*. Universidad Nacional Agraria de La Selva. Perú.
- Poveda, J. M., Loarce, L., Alarcón, M., Díaz-Maroto, M. C., & Alañón, M. E. (2018). Revalorization of winery by-products as source of natural preservatives obtained by means of green extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, 112(January), 617-625. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.063>
- Qy, X. Y., Zeng, Z. P., & Jiang, J. G. (2011). Preparation of lutein microencapsulation by complex coacervation method and its physicochemical properties and stability. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1596-1603. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.006>
- Rezvankeh, A., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. (2019). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 38(1-2), 235-258. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>

- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliari, V., Genovese, M. I., Goncalves, A. E. D. S. S., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127(1), 174-179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.137>
- Rodrigues do Amaral, P., Lopes Andrade, P., & Costa de Conto, L. (2019). Microencapsulation and its uses in food science and technology: A review. *Microencapsulation - Processes, Technologies and Industrial Applications*, 1-18. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81997>
- Sanchez Reinoso, Z. (2016). *Evaluación de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y sensoriales de microencapsulados de cacao obtenidos por spray drying*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias.
- Silva, P., Stringheta, P. C., Teófilo, R., & Nolasco de Oliveira, I. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538-544. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.039>
- Stabrauskiene, J., Pudziulyte, L., & Bernatoniene, J. (2024). Optimizing Encapsulation: Comparative Analysis of Spray-Drying and Freeze-Drying for Sustainable Recovery of Bioactive Compounds from *Citrus x paradisi* L. Peels. *Pharmaceuticals*, 17(5). <https://doi.org/10.3390/ph17050596>
- 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>
- Tolun, A., Artik, N., & Altintas, Z. (2020). Effect of different microencapsulating materials and relative humidities on storage stability of microencapsulated grape pomace extract. *Food Chemistry*, 302(August 2019), 125347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125347>
- Villacrez, J. L., Carriazo, J. G., & Osorio, C. (2014). Microencapsulation of Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.) Aqueous Extract by Spray Drying. *Food and Bioprocess Technology*, 7(5), 1445-1456. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1172-y>
- Wittenauer, J., MäcKle, S., Sußmann, D., Schweiggert-Weisz, U., & Carle, R. (2015). Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity. *Fitoterapia*, 101, 179-187. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.01.005>
- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate Polymers*, 298(August), 120113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113>
- Yang, M., Li, L., Zhu, X., Liang, L., Chen, J., Cao, W., Liu, W., Duan, X., Ren, G., & Liu, Z. (2024). Microencapsulation of fish oil by spray drying, spray freeze-drying, freeze-drying, and microwave freeze-drying: Microcapsule characterization and storage stability. *Journal of Food Science*, 89(6), 3276-3289. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17098>
- Yinbin, L., Wu, L., Weng, M., Tang, B., Lai, P., & Chen, J. (2018). Effect of different encapsulating agent combinations on physicochemical properties and stability of microcapsules loaded with phenolics of plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Powder Technology*, 340, 459-464. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.09.049>
- Zhang, L., Meng, J. G., Liu, Y. M., Wang, Y. Z., Sun, Z. L., Yu, L. J., Gao, X. Y., & Zhi, C. (2023). Preparation of multi-color microcapsules and their application in smart color-switching textiles. *Textile Research Journal*, 93(5-6), 1334-1346. <https://doi.org/10.1177/00405175221132013>