

Bioaccessibility of micro and nanoencapsulated vegetable antioxidants: *In vitro* assessment perspectives

Bioaccesibilidad de antioxidantes de origen vegetal micro y nanoencapsulados: perspectivas para su determinación *in vitro*

Hernández-Jabalera, Anaid^{1*}; Mena-Martínez, María¹; León-Espinosa, Erika B.¹; Rayas-Amor, Adolfo A.¹; Díaz-Ramírez, Mayra¹; Jiménez-Guzmán, Judith¹; García-Garibay, Mariano¹; Miranda de la Lama, Genaro¹; Cruz-Monterrosa, Rosy G.¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma. Av. de las Garzas No. 10, Col. El Panteón, Municipio Lerma de Villada, Estado de México, C.P. 52005

*Autor de correspondencia: a.hernandez@correo.ler.uam.mx

ABSTRACT

Objective: Identify and discuss the approaches commonly used to assess *in vitro* bioaccessibility of micro and nanoencapsulated vegetal antioxidants. The emphasis is on identifying the scope and limitations of the encapsulation techniques and the digestive models.

Design/methodology/approach: Analytic discussion of scientific papers gather through SCOPUS, EBSCO, ScienceDirect, Pubmed and Google scholar databases by using the following keywords: Antioxidant, Vegetable, Micro/nanoencapsulation, Bioaccessibility, *In vitro* digestion, Release.

Results: A consistent trend identified is the privileged use of extracts over purified molecules, the use of by-products in systems produced by broad-distribution technologies.

Among *in vitro* models, static models are generally preferred although there is a great variation in the components and digestive stages considered.

The analysis of the accumulated experience provides encouraging evidence in terms of resistance to gastric conditions and greater release during the intestinal phase for a dispersible amount of micro or nanocapsules.

Limitations on study/implications: This review is limited in its scope due to the scarce information on promising systems that have not been tested in simulations of digestion. Those studies are not considered in the array of studies reviewed here.

Findings/conclusions: In order to transition from reported experimental data to the real bioaccessibility of antioxidants from vegetal sources, standardization of *in vitro* digestive static systems need to be addressed. Additionally, the most urgent limitations to be overcome included initial losses during encapsulation, characterization of release type, punctual accumulation and toxic effects and comparison of achieved bioaccessible concentrations against concentrations needed for *in vivo* effect.

Keywords: Antioxidant, Vegetable, Micro/nanoencapsulation, Bioaccessibility, *In vitro* digestion, Release.

RESUMEN

Objetivo: Discutir las perspectivas utilizadas para la evaluación *in vitro* de la bioaccesibilidad de antioxidantes vegetales para identificar el alcance y las limitaciones de la micro y nanoencapsulación y los modelos de digestión.

Diseño/metodología/aproximación: Discusión analítica de la información obtenida de SCOPUS, EBSCO, ScienceDirect, google scholar con los términos antioxidante, micro/ nanoencapsulación, bioaccesibilidad, digestión, liberación.

Resultados: Los sistemas de antioxidantes encapsulados evaluados privilegian el uso de extractos frente a moléculas purificadas, el aprovechamiento de subproductos y las tecnologías de amplia distribución. Los modelos estáticos *in vitro* son los más utilizados, con diferencias en los elementos y etapas de la digestión. El análisis de la experiencia acumulada proporciona evidencia alentadora en términos de resistencia a las condiciones gástricas y una mayor liberación durante la fase intestinal utilizando concentraciones logradas en una cantidad dispersable de micro o nanocapsulas.

Limitaciones del estudio/implicaciones: Sistemas nuevos con características prometedoras para los que aún no se han realizado pruebas de simulación de la digestión se encuentran fuera del alcance de este análisis.

Hallazgos/conclusiones: Para trasladar la experiencia recopilada hacia la bioaccesibilidad real de los antioxidantes se requiere atender a las recomendaciones para la estandarización de los modelos de digestión *in vitro* de tipo estáticos, así como considerar las limitaciones derivadas de la pérdida inicial de antioxidantes durante la producción del sistema encapsulado, la poca información proporcionada respecto al tipo de liberación, su acumulación y los posibles efectos tóxicos, la determinación de la representatividad de las concentraciones evaluadas respecto a las necesarias *in vivo*.

Palabras clave: Antioxidante, Vegetal, Micro/Nanoencapsulación, Bioaccesibilidad, Digestión.

de fuentes vegetales. De igual manera se han desarrollado productos diseñados para cubrir, tanto las necesidades nutricionales, como para aportar un beneficio a la salud y al bienestar de los seres humanos, entre ellos; nutraceuticos, ingredientes o aditivos bioactivos, alimentos funcionales y suplementos alimenticios (Zhang *et al.*, 2015).

No obstante, la amplia investigación en torno a la actividad antioxidante de moléculas obtenidas de fuentes vegetales, diferentes estudios han evidenciado que los compuestos que presentan efectos antioxidantes *in vitro* pueden no ser candidatos para ejercer su efecto *in vivo*. Entre los factores que limitan los posibles efectos de estos compuestos se encuentran; i) la complejidad de las materias primas; ya que de manera natural los antioxidantes se encuentran en mezclas complejas que además varían debido a la biodiversidad vegetal y a las condiciones de cultivo. ii) la inestabilidad ante los ambientes moleculares de procesamiento y aplicación (pH, temperatura o fuerza iónica). iii) la reactividad y susceptibilidad a la transformación iv) la baja biodisponibilidad debido a una bioaccesibilidad y absorción restringidas, v) la falta de especificidad para alcanzar el órgano o molécula blanco (Elias *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2018). Diferentes estrategias han sido adoptadas para hacer frente a estos retos; de entre las cuales, la micro y nanoencapsulación de antioxidantes vegetales han sido ampliamente investigadas con el propósito de mejorar la solubilidad, estabilidad y bioaccesibilidad. Como resultado una gran y diversa cantidad de sistemas han sido diseñados y preparados con la aplicación de diferentes tecnologías. Sin embargo, la proporción de estudios que han evaluado

INTRODUCCIÓN

El contexto de morbilidad global, generado entre 1990 y 2017, caracterizado por la prevalencia de enfermedades no transmisibles, pero altamente discapacitantes (Sousa *et al.*, 2009; IHME, 2018) ha agudizado el interés en el estudio de diferentes aspectos de las enfermedades crónico degenerativas, en cuya patogénesis se ha señalado la sobreproducción, acumulación o deslocalización de radicales libres y especies pro-oxidantes en el cuerpo humano o la interacción con especies oxidantes externas. En consecuencia, el uso de antioxidantes, en particular aquellos de fuentes vegetales, ha demostrado ser una alternativa con efectos profilácticos (Low *et al.*, 2018).

La evidencia en torno a los efectos benéficos de los antioxidantes vegetales ha impulsado la exhaustiva caracterización de moléculas antioxidantes, la evaluación de diferentes mecanismos antioxidantes y el mejoramiento

la bioaccesibilidad de los antioxidantes encapsulados es aún menor respecto a los sistemas caracterizados. Una limitante importante para la evaluación de los efectos de la encapsulación sobre la bioaccesibilidad ha sido la variabilidad en las estrategias y modelos de digestión, lo cual ha condicionado la posibilidad de comparación entre los resultados y la congruencia con resultados *in vivo*. Ante esta situación, en este trabajo se analiza la literatura sobre la experiencia obtenida de la evaluación *in vitro* de la bioaccesibilidad de antioxidantes vegetales con el objetivo de discutir las perspectivas utilizadas e identificar el alcance y las limitaciones en: 1) las características de los sistemas de encapsulación de antioxidantes vegetales, 2) las características de los sistemas de simulación de la digestión y, 3) el comportamiento en la digestión de los antioxidantes encapsulados. Este trabajo contribuye a orientar las estrategias de producción de antioxidantes vegetales hacia aquellas que priorizan la estandarización, y la selección de candidatos con características que potencien las posibilidades de éxito *in vivo* desde etapas tempranas del diseño.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda exhaustiva de reportes científicos (sin restricción de año o tipo) referente a la evaluación de la bioaccesibilidad de antioxidantes de fuentes de origen vegetal. Para ello se utilizaron los buscadores y bases de datos; SCOPUS, EBSCO, PUBMED, ScienceDirect, Scielo, Redalyc, Google Scholar, entre otros. Los términos de búsqueda utilizados fueron: antioxidante, micro/nanoencapsulación, bioaccesibilidad, digestión, estabilidad, liberación, viabilidad y/o disponibilidad. Por lo tanto, la búsqueda se restringió a la discusión de antioxidantes de origen vegetal y a los trabajos en los cuales se efectuaron pruebas de digestión. La literatura referente sólo a la encapsulación y caracterización de micro o nanocapsulas y a su uso en pruebas clínicas queda fuera del alcance de esta revisión. De las fuentes bibliográficas se extrajo la información referente a los métodos y resultados para su posterior análisis bajo los ejes temáticos; características de los sistemas de encapsulación, los de simulación de la digestión y el comportamiento durante la digestión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sistemas de micro o nanoencapsulación utilizados para la protección de antioxidantes de fuentes vegetales

Los antioxidantes de origen vegetal han recibido particular atención debido a los efectos benéficos en la

prevención de enfermedades y su amplia distribución en frutos, hortalizas, cereales, fabáceas, entre otros alimentos. Para potenciar sus efectos se han utilizado diferentes estrategias entre las que destacan la micro encapsulación o la nanoencapsulación, con las cuales se busca atrapar los antioxidantes en partículas de diferentes escalas con los objetivos de incrementar su solubilidad, disminuir la inestabilidad química, mejorar la bioaccesibilidad, controlar la liberación o enmascarar propiedades sensoriales poco favorables (Ramírez et al., 2015; Gonçalves et al., 2018).

Una muy amplia cantidad de micro y nano partículas antioxidantes han sido producidas y caracterizadas a nivel micro y nanoestructural; sin embargo, la proporción para las cuales se ha determinado la bioaccesibilidad en condiciones fisiológicamente representativas es aun baja. En los Cuadros 1 y 2 se presentan los antioxidantes que han sido incorporados a micro o nanopartículas, los materiales de pared y las técnicas utilizadas para la su producción.

En general se observa que moléculas antioxidantes como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, taninos y coumarinas), carotenoides (carotenos, licopeno, luteína, criptoxantina), triterpenoides y fitosteroles han sido utilizados en su mayoría como mezclas en extractos acuosos o aceites en comparación con el uso de moléculas puras. Estos tipos de antioxidantes son también los más ampliamente distribuidos y cuyas propiedades intrínsecas (tamaño y estructura tridimensional, carga, solubilidad, carácter hidrofóbico, propiedades ácido-base, entre otras) les permiten ofrecer protección en los sistemas biológicos a través de diferentes mecanismos entre los que destacan; la captación de especies radicales libres, la reducción de hidroxiperoxidos y quelación de iones metálicos y pro oxidantes (Elias et al., 2008).

Entre la diversidad de estructuras de los antioxidantes vegetales se encuentran moléculas tanto de carácter hidrofóbico como hidrofílico las cuales necesitan ser incluidas en sistemas de encapsulación que puedan proveerlas de una ventaja competitiva (Neubauer et al., 2014). De manera general los sistemas utilizados pueden dividirse en aquellos formados por lípidos y surfactantes (emulsiones, liposomas, partículas lipídicas sólidas, formulaciones lipídicas auto dispersables, acarreadores lipídicos nanoestructurados) (Cuadro 1), o bien, sistemas basados en polisacáridos y proteínas



Cuadro 1. Sistemas de micro y nanoencapsulación de antioxidantes vegetales construidos con lípidos, surfactantes y polímeros sintéticos.

Antioxidante	Materiales	Método	Referencia
Curcumina	Triacilglicéridos con ácidos grasos de cadena corta, media y larga	Microfluidización (fase lipídica en fase acuosa)	Ahmed <i>et al.</i> , 2012
Extracto de taninos de Acacia	Aceite de palma y manteca de cerdo Tween80/Span80	Doble emulsión (fase sólida en fase lipídica en fase acuosa)	Adejero <i>et al.</i> , 2018
Extracto de antocianinas de arroz negro	Lípidos	Emulsificación en dos pasos	Huang <i>et al.</i> , 2019
Ácido gálico, ácido ascórbico, curcumina y quercetina	Lípidos	Hidratación de capas lipídicas finas	Tavano <i>et al.</i> , 2014
Ginsenosidos del extracto de ginseng	Lípidos	Hidratación de capas lipídicas finas seguida de homogeneización a altas presiones	Tsai <i>et al.</i> , 2012
α -Tocoferol y proantocianidinas de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	Aceites de palma, soya y algodón	Atomización a baja temperatura	Tulini <i>et al.</i> , 2017
(-)-Epigallocatequingalato (EGCG)	Fosfolípidos, colesterol, Tween 80	Inyección de etanol en combinación con microfluidización a altas presiones (nanoliposomas)	Zou <i>et al.</i> , 2014
Carotenoides	Fosfolípidos de yema de huevo	Sistema de láminas finas por evaporación	Tan <i>et al.</i> , 2014
Compuestos fenólicos de algarrobo (<i>Ceratonia siliqua</i> L.) fermentado y sin fermentar	Policaprolactona	Doble emulsión por evaporación de disolvente	Ydjedd <i>et al.</i> , 2017

(hidrogeles, complejos proteína-polisacárido, micelas poliméricas) (Cuadro 2).

Las principales tecnologías utilizadas incluyen el secado por aspersión y la formación de emulsiones, además de la extrusión, recubrimiento por microfluidización, coacervación, formación de liposomas, acomplejamiento en inclusiones, cocristalización, nanoencapsulación, inclusión molecular, emulsificación, sistemas laminados, entre otras (Ramírez *et al.*, 2015). Destaca el uso de materiales de importancia regional o el aprovechamiento de subproductos a través de tecnologías simples y de amplia distribución como el secado por aspersión.

Modelos *in vitro* para la simulación de la digestión utilizados para la evaluación de la bioaccesibilidad de antioxidantes vegetales en micro o nanocápsulas

A partir de la naturaleza de los antioxidantes, los materiales y las tecnologías empleados es posible conseguir la asociación de las moléculas en arreglos que les otorgan alguna ventaja para su aprovechamiento, entre ellas coadyuvar en lograr la bioaccesibilidad de la molécula, la cual puede definirse como la proporción de la molécula ingerida que alcanza el sitio de absorción con su estructura intacta. Para determinarla pueden utilizarse modelos de complejidades diferentes (artificiales *in vitro*, modelos *in vivo*, *in situ* o *ex vivo*) tomando en cuenta que el tipo de sistema influenciará el grado y naturaleza de

los cambios que ocurran en las moléculas (Gonçalves *et al.*, 2018). Dado que la literatura revisada corresponde a las primeras etapas para la evaluación de un compuesto bioactivo, los modelos *in vitro* estáticos, en los cuales los compuestos son expuestos a soluciones de simulación de los fluidos gástricos e intestinales son los más utilizados. En el Cuadro 3 se recopila la información relativa al tipo de simulación de la digestión que ha sido utilizada para la evaluación de la liberación y bioaccesibilidad de los antioxidantes vegetales micro/nano encapsulados. Sin embargo, con frecuencia difieren en las etapas de la digestión incluidas (fase oral, gástrica, intestino delgado e intestino grueso) así como en la formulación, concentraciones, volúmenes y tiempos de digestión.

En la última década se han realizado recomendaciones importantes para la simulación de la digestión *in vitro* en condiciones relevantes y una propuesta para la estandarización puede encontrarse en el documento de Minekus *et al.* (2014). Además, la correlación entre estudios *in vivo* e *in vitro* de digestión ha sido revisada con la conclusión de que; si bien, los estudios *in vitro* basados en sistemas estáticos son una simplificación de los aspectos dinámicos que prevalecen en el tracto gastrointestinal, han resultado útiles para el estudio de la influencia de los parámetros ambientales, así como para la evaluación de la resistencia o la liberación controlada a partir de la acción de las enzimas digestivas (Minekus *et al.*, 2015). Una

Cuadro 2. Sistemas de micro y nanoencapsulación de antioxidantes vegetales construidos con polisacáridos y proteínas.

Antioxidante	Materiales	Método	Referencia
Antocianinas del Azafrán	β -glucano and β -ciclodextrina	Secado por aspersión	Ahmad et al., 2018
Catequina	Almidones de castaña, castaña de la india y raíz de loto	Ultrasonificación	Ahmad et al., 2019
Resveratrol coencapsulado con aceite de pescado y tributirina	Proteína láctea, glucosa y almidón resistente tratados térmicamente	Microfluidización (fase lipídica en fase acuosa)	Augustin et al., 2011
Tocoferoles del aceite de castaña	Proteína y carbohidratos	Homogeneización seguida de liofilización	Calvo et al., 2012
Compuestos fenólicos del fruto de jussara (<i>Euterpe edulis</i> Martius)	Maltodextrina, inulina y goma arábica	Secado por aspersión	Bernardes et al., 2019
Compuestos fenólicos de mora dorada (<i>Physalis peruviana</i> L.)	Maltodextrina, goma arábica, alginato y pectina	Homogenización seguida de liofilización	Dag et al., 2017
Quercetina	Albúmina del Suero Bovina	Interacción hidrofóbica y por puentes de hidrógeno	Fang et al., 2011
Antocianinas de Maqui (<i>Aristotelia chilensis</i>)	Inulina y Alginato de sodio	Secado por aspersión	Fredes et al., 2018
Epigallocatequingalato (EGCG)	Gelatina y quitosan	Secado por aspersión (nanocápsulas)	Gomez-Mascaraque et al., 2016
Compuestos fenólicos de la piel de uva	Maltodextrina	Secado por aspersión	Lavelli et al., 2017
Extracto de polifenoles de <i>Clitoria ternatea</i>	Alginato	Extrusión	Pasukamonset et al., 2016
Peptidos de canola	Proteína de canola tratada con altas presiones	Secado por aspersion	Wang et al., 2015
(-)-Epigallocatequingalato (EGCG)	Quitosan y ferritina de soya recombinante	Interacciones electrostáticas	Yang et al., 2018
Catequinas de té verde, en formulación con vitamina C y xilitol	ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o γ -ciclodextrina	Recubrimiento con disolvente	Son et al., 2016
Fitoesteroles, tocoferoles y polifenoles de la semilla de Kenaf (<i>Hibiscus cannabinus</i> L.)	Caseinato de sodio o β -ciclodextrina	Homogeneización a altas presiones seguida de enfriamiento	Cheong et al., 2016
Fitoesteroles, tocoferoles y polifenoles en el aceite de la semilla de Kenaf	β -ciclodextrina, goma arábica, caseinato de sodio	Secado por aspersión	Chew et al., 2018
β -caroteno	Maltodextrina o Quitosan y alginato	Secado por aspersión o extrusión	Donhowe et al., 2014
β -caroteno	Zeína y concentrado de proteínas del suero lácteo	Homogeneización a altas velocidades, ultrasonificación seguidas de electroatomización	Gomez-Mascaraque et al., 2017
Extracto de compuestos fenólicos de la hoja de oliva (Secoiroides, flavonoides, fenoles simples, oleosidos y ácido elenólico)	Alginato de sodio	Secado por aspersión	González et al., 2019
Tocotrienoles del aceite de palma	Quitosan, Alginato	Gelación ionotrópica	Phui et al., 2017
Carotenoides, tocoferoles, tocotrienoles del aceite de palma	Carboximetil celulosa	Emulsificación y Gelación ionotrópica	Sathasivam et al., 2018



Cuadro 3. Modelos *in vitro* de simulación de la digestión utilizados para determinar la bioaccesibilidad de antioxidantes vegetales encapsulados.

Tipo de Modelo	Características	Referencia
Diálisis en medios con diferentes pH	Buffer de acetatos (pH 5.4), Buffer de fosfatos (pH 6.8) , HCl (pH 2.2)	Lavelli <i>et al.</i> , 2017; Adejoro <i>et al.</i> , 2018
Diálisis	solución de fluido gástrico	Tavano <i>et al.</i> , 2014
Modelo estático	Solución de simulación del fluido gástrico y Solución de simulación del fluido intestinal	Ahmad <i>et al.</i> , 2019; Chew <i>et al.</i> , 2018; Dag <i>et al.</i> , 2017; Donhowe <i>et al.</i> , 2014; Huang <i>et al.</i> , 2019; Pasukamonset <i>et al.</i> , 2016; Phui Yee Tan <i>et al.</i> , 2017; Sathasivam <i>et al.</i> , 2018; Tulini <i>et al.</i> , 2017; Wang <i>et al.</i> , 2015; Yang <i>et al.</i> , 2018
Modelo estático	Solución de simulación del fluido gástrico	Fang <i>et al.</i> , 2011
Modelo estático	Solución salival, Solución de simulación del fluido gástrico y Solución de simulación del fluido intestinal	Ahmad <i>et al.</i> , 2018; Fredes <i>et al.</i> , 2018; Gomez-Mascaraque <i>et al.</i> , 2016, 2017; Siham Ydjedd <i>et al.</i> , 2017; Tan <i>et al.</i> , 2014; Son <i>et al.</i> , 2016
Modelo dinámico	Solución de simulación del fluido gástrico y Solución de simulación del fluido intestinal	Ahmed <i>et al.</i> , 2012
Modelo dinámico en dos etapas	Solución de simulación del fluido gástrico y Solución de simulación del fluido intestinal	Cheong <i>et al.</i> , 2016
SimuGIT	Reactor con suministro continuo de soluciones equipado con una membrana de microfiltración de cerámica multicanal en configuración tubular para la simulación de la absorción en intestino	González <i>et al.</i> , 2019

importante área de oportunidad para probar condiciones mas apegadas a la realidad consiste en la utilización de sistemas dinámicos los cuales simulan el cambio en las proporciones de las soluciones debidos al transito y permanencia a través de los diferentes órganos del sistema gastrointestinal (Figura 1), los cuales pueden resultar mas completos si se simula la absorción de compuestos.

Bioaccesibilidad de antioxidantes de fuentes vegetales determinada *in vitro*

La estrategia de encapsulación se considera exitosa si protege a los antioxidantes y les permite llegar en condiciones estables al punto de absorción, a partir del análisis de los resultados reportados se identifica que uno de los resultados más consistentes es que con la micro o nanoencapsulación protege a las moléculas antioxidantes de las condiciones que prevalecen en el estómago y se logra la liberación de un alto porcentaje (>80%) en la fase intestinal en comparación a la evaluación de compuestos sin encapsulación; tanto para antioxidantes en sistemas lipídicos (Donhowe *et al.*, 2014; Tan *et al.*, 2014; Cheong *et al.*, 2016 Tulini *et al.*, 2017; Phui *et al.*, 2017; Chew *et al.*, 2018; Sathasivam *et al.*, 2018; González *et al.*, 2019) como con el uso de polisacáridos y proteínas como materiales de encapsulación (Wang *et al.*, 2015; Pasukamonset *et al.*, 2016; Son *et al.* 2016; Ahmad *et al.*, 2018; Ahmad *et al.*, 2019; Fredes *et al.*, 2018). Más aún se ha sugerido que a través de la encapsulación se logra

una liberación lenta controlada, la cual ha sido reportada como benéfica para evitar efectos de toxicidad ocasionadas por la liberación total de una alta concentración de la molécula en un sitio puntual (Ahmad *et al.*, 2019). Sin embargo, debe considerarse que la biodisponibilidad no es una propiedad inmutable de un compuesto, sino que es dependiente de la dosis, formulación, especie, estado de alimentación del individuo y co-administración con otros nutraceuticos o fármacos (Roberts *et al.*, 2000).

En contraste a la principal tendencia en los resultados se han documentado casos para los cuales la microencapsulación no representó una protección significativa para los antioxidantes respecto a los sistemas no encapsulados (Fang *et al.*, 2011; Calvo *et al.*, 2012); o bien, que a pesar de la alta liberación, la concentración de los antioxidantes es baja para los efectos deseables, debido a baja concentración inicial, la degradación o la formación de compuestos derivados (Gomez-Mascaraque *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

El análisis de la experiencia hasta ahora acumulada proporciona evidencia alentadora en términos de resistencia a las condiciones gástricas y una mayor liberación durante la fase intestinal, así como la necesidad de avanzar hacia modelos de mayor complejidad; sin embargo, para trasladar la experiencia recopilada hacia la bioaccesibilidad

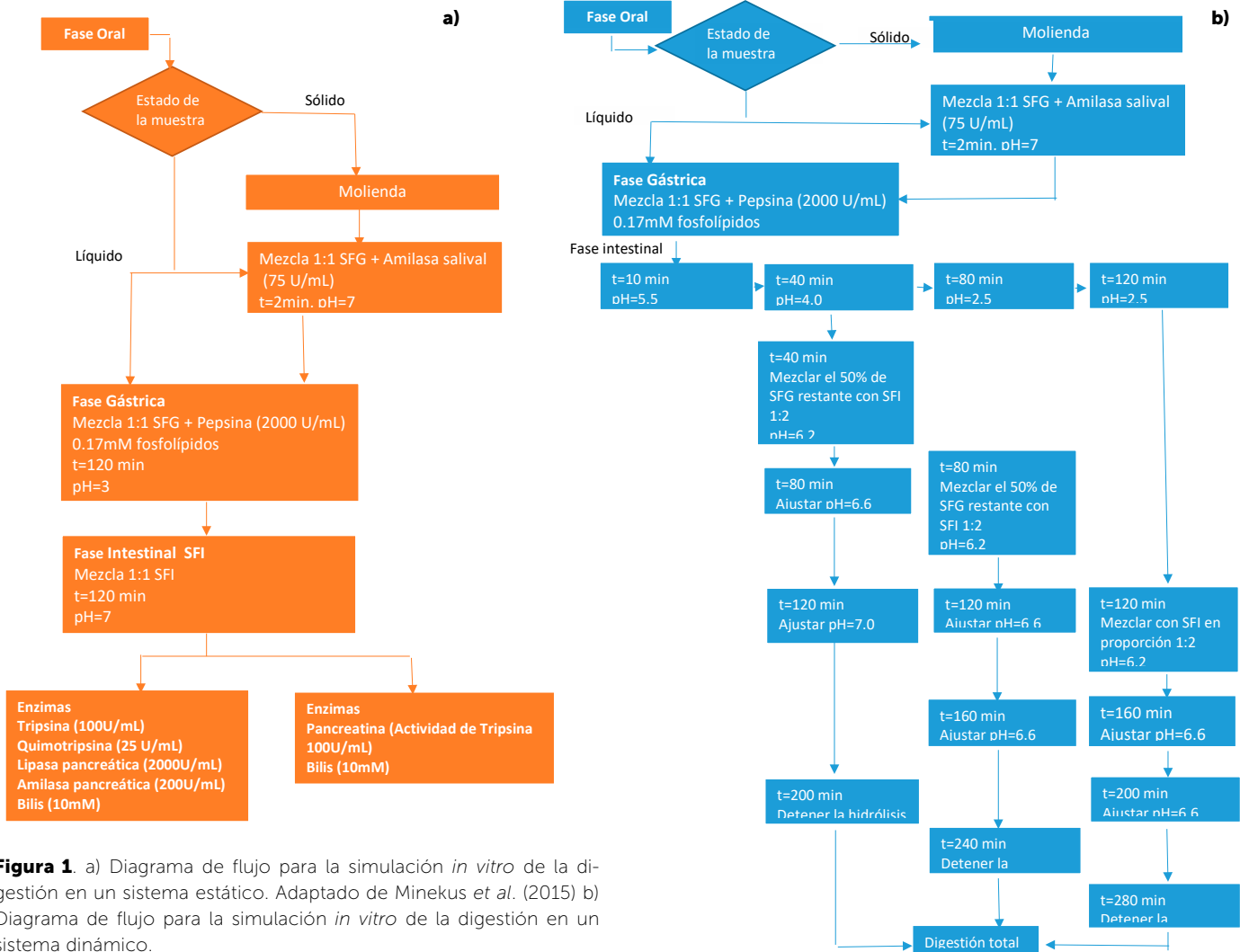


Figura 1. a) Diagrama de flujo para la simulación *in vitro* de la digestión en un sistema estático. Adaptado de Minekus et al. (2015) b) Diagrama de flujo para la simulación *in vitro* de la digestión en un sistema dinámico.

real de los antioxidantes es necesario resolver las limitantes asociadas a la estandarización de los métodos, las relacionadas con la pérdida inicial de antioxidantes durante la producción del sistema de encapsulado, la poca información proporcionada respecto al tipo de liberación, su acumulación y los posibles efectos tóxicos, la influencia de una matriz alimentaria; así como la determinación de la representatividad de las concentraciones evaluadas respecto a las que se requieren para producir un efecto positivo en el tracto gastrointestinal o si se alcanzaran las necesarias tras la absorción y sobre los parámetros descritos.

LITERATURA CITADA

Adejoro, F. A., Hassen, A., & Thantsha, M. S. (2018). Preparation of acacia tannin loaded lipid microparticles by solid-in-oil-in-water and melt dispersion methods, their characterization and evaluation of their effect on ruminal gas production *In Vitro*. PLOS ONE, 13(10), e0206241. doi.org/10.1371/journal.pone.0206241

Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A. (2018). Microencapsulation of saffron anthocyanins using β glucan and β cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion. International Journal of Biological Macromolecules, 109, 435–442. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122

Ahmad, M., Mudgil, P., Gani, A., Hamed, F., Masoodi, F. a., & Maqsood, S. (2019). Nano-encapsulation of catechin in starch nanoparticles: Characterization, release behavior and bioactivity retention during simulated in-vitro digestion. Food Chemistry, 270, 95–104. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.024

Ahmed, K., Li, Y., McClements, D. J., & Xiao, H. (2012). Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties. Food Chemistry, 132(2), 799–807. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.039

Augustin, M. A., Abeywardena, M. Y., Patten, G., Head, R., Lockett, T., De Luca, A., & Sanguansri, L. (2011). Effects of microencapsulation on the gastrointestinal transit and tissue distribution of a bioactive mixture of fish oil, tributyrin and resveratrol. Journal of Functional Foods, 3(1), 25–37. doi.org/10.1016/j.jff.2011.01.003Bernardes, 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, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.009>
- 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, 173–180. doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.009
- Calvo, P., Lozano, M., Espinosa-Mansilla, A., & González-Gómez, D. (2012). In-vitro evaluation of the availability of ω -3 and ω -6 fatty acids and tocopherols from microencapsulated walnut oil. *Food Research International*, 48(1), 316–321. doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.007
- Cheong, A. M., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2016). *In vitro* evaluation of the structural and bioaccessibility of kenaf seed oil nanoemulsions stabilised by binary emulsifiers and β -cyclodextrin complexes. *Journal of Food Engineering*, 189, 90–98. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.06.002
- Chew, S. C., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2018). In-vitro digestion of refined kenaf seed oil microencapsulated in β -cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 225, 34–41. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.01.018
- Dag, D., Kilercioglu, M., & Oztop, M. H. (2017). Physical and chemical characteristics of encapsulated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice powder. *LWT - Food Science and Technology*, 83, 86–94. doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.007
- Donhowe, E. G., Flores, F. P., Kerr, W. L., Wicker, L., & Kong, F. (2014). Characterization and *in vitro* bioavailability of beta-carotene: Effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 57(1), 42–48. doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.037
- Elias, R. J., Kellerby, S. S., & Decker, E. A. (2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(5), 430–441. doi.org/10.1080/10408390701425615
- Fang, R., Hao, R., Wu, X., Li, Q., Leng, X., & Jing, H. (2011). Bovine Serum Albumin Nanoparticle Promotes the Stability of Quercetin in Simulated Intestinal Fluid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 6292–6298. doi.org/10.1021/jf200718j
- Fredes, C., Osorio, M. J., Parada, J., & Robert, P. (2018). Stability and bioaccessibility of anthocyanins from maqui (*Aristotelia chilensis* [Mol.] Stuntz) juice microparticles. *LWT*, 91, 549–556. doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.090
- Gomez-Mascaraque, L. G., Miralles, B., Recio, I., & Lopez-Rubio, A. (2016). Microencapsulation of a whey protein hydrolysate within micro-hydrogels: Impact on gastrointestinal stability and potential for functional yoghurt development. *JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS*, 26, 290–300. doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.006
- Gomez-Mascaraque, L. G., Perez-Masia, R., Gonzalez-Barrio, R., Jesus Periago, M., & Lopez-Rubio, A. (2017). Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of beta-carotene. *FOOD HYDROCOLLOIDS*, 73, 1–12. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.019
- Gonçalves, R. F. S., Martins, J. T., Duarte, C. M. M., Vicente, A. A., & Plinheiro, A. C. (2018). Advances in nutraceutical delivery systems: From formulation design for bioavailability enhancement to efficacy and safety evaluation. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 270–291. doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.011
- González, E., Gómez-Caravaca, A. M., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Martínez-Férez, A., Robert, P. (2019). Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 279, 40–48. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.127
- Huang, Y., & Zhou, W. (2019). Microencapsulation of anthocyanins through two-step emulsification and release characteristics during *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 278, 357–363. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.073
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2018). Findings from the Global Burden of Disease Study 2017. Seattle, WA: IHME
- Lavelli, V., Sri Harsha, P. S. C., Laureati, M., & Pagliarini, E. (2017). Degradation kinetics of encapsulated grape skin phenolics and micronized grape skins in various water activity environments and criteria to develop wide-ranging and tailor-made food applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 156–164. doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.006
- Low, S., Ferraz, A., Maio, R., Francisqueti, F., Pierine, M., Borges, W., ... Corrêa, C. (2018). Factors that influence the redox state in children: An exploratory study. *Clinics*, 73. <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e335>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Brodtkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113–1124. doi.org/10.1039/C3FO60702J
- Neubauer, M. P., Poehlmann, M., & Fery, A. (2014). Microcapsule mechanics: From stability to function. *Advances in Colloid and Interface Science*, 207, 65–80. doi.org/10.1016/j.cis.2013.11.016
- Pasukamonset, P., Kwon, O., & Adisakwattana, S. (2016). Alginate-based encapsulation of polyphenols from *Clitoria ternatea* petal flower extract enhances stability and biological activity under simulated gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 61, 772–779. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.039
- Phui Yee Tan, Tan, T. B., Chang, H. W., Tey, B. T., Chan, E. S., Lai, O. M., ... Tan, C. P. (2017). Effects of Environmental Stresses and *in vitro* Digestion on the Release of Tocotrienols Encapsulated Within Chitosan-Alginate Microcapsules. *JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY*, 65(48), 10651–10657. doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03521
- Ramírez, M. J., Giraldo, G. I., & Orrego, C. E. (2015). Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder Technology*, 277, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.02.060>
- Roberts, D. J. (2000). Molecular mechanisms of development of the gastrointestinal tract. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 219(2), 109–120. [https://doi.org/10.1002/1097-0177\(2000\)9999:9999<::AID-DVDY1047>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0177(2000)9999:9999<::AID-DVDY1047>3.0.CO;2-6)
- Sathasivam, T., Muniyandy, S., Chuah, L. H., & Janarthanan, P. (2018). Encapsulation of red palm oil in carboxymethyl sago cellulose beads by emulsification and vibration technology: Physicochemical characterization and *in vitro* digestion. *Journal of Food Engineering*, 231, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.03.008>

- Son, Y.-R., Chung, J.-H., Ko, S., & Shim, S.-M. (2016). Combinational enhancing effects of formulation and encapsulation on digestive stability and intestinal transport of green tea catechins. *Journal of Microencapsulation*, 33(2), 183–190. <https://doi.org/10.3109/02652048.2016.1144816>
- Sousa, R. M., Ferri, C. P., Acosta, D., Albanese, E., Guerra, M., Huang, Y., ... Prince, M. (2009). Contribution of chronic diseases to disability in elderly people in countries with low and middle incomes: a 10/66 Dementia Research Group population-based survey. *Lancet (London, England)*, 374(9704), 1821–1830. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61829-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61829-8)
- Tan, C., Zhang, Y., Abbas, S., Feng, B., Zhang, X., & Xia, S. (2014). Modulation of the carotenoid bioaccessibility through liposomal encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 692–700. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.10.011>
- Tavano, L., Muzzalupo, R., Picci, N., & de Cindio, B. (2014). Co-encapsulation of antioxidants into niosomal carriers: Gastrointestinal release studies for nutraceutical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.058>
- Tsai, W.-C., Li, W.-C., Yin, H.-Y., Yu, M.-C., & Wen, H.-W. (2012). Constructing liposomal nanovesicles of ginseng extract against hydrogen peroxide-induced oxidative damage to L929 cells. *Food Chemistry*, 132(2), 744–751. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.026>
- Tulini, F. L., Souza, V. B., Thomazini, M., Silva, M. P., Massarioli, A. P., Alencar, S. M., Favaro-Trindade, C. S. (2017). Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) extract co-encapsulated with α -tocopherol by spray chilling. *Food Research International*, 95, 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.010>
- Wang, Z., Ju, X., He, R., Yuan, J., & Aluko, R. E. (2015). Effect of high pressure treatment on rapeseed protein microparticle properties and gastrointestinal release behavior of the encapsulated peptides. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*, 77, 549–555. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.023>
- Yang, R., Liu, Y., Gao, Y., Yang, Z., Zhao, S., Wang, Y., Zhou, Z. (2018). Nano-encapsulation of epigallocatechin gallate in the ferritin-chitosan double shells: Simulated digestion and absorption evaluation. *Food Research International*, 108, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.074>
- Ydjedd, S., Bouriche, S., Lopez-Nicolas, R., Sanchez-Moya, T., Frontela-Saseta, C., Ros-Berruezo, G., Kati, D.-E. (2017). Effect of *in Vitro* Gastrointestinal Digestion on Encapsulated and Nonencapsulated Phenolic Compounds of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Pulp Extracts and Their Antioxidant Capacity. *JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY*, 65(4), 827–835. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05103>
- Zhang, Y.-J.; Gan, R.-Y.; Li, S.; Zhou, Y.; Li, A.-N.; Xu, D.-P.; Li, H.-B. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules* 2015, 20, 21138-21156.
- Zou, L., Peng, S., Liu, W., Gan, L., Liu, W., Liang, R., Chen, X. (2014). Improved *in vitro* digestion stability of (–)-epigallocatechin gallate through nanoliposome encapsulation. *Food Research International*, 64, 492–499. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.042>

